



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI UDINE

CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE  
SPERIMENTALI E CLINICHE

Ciclo XXV

Tesi di Dottorato di Ricerca

LA ELASTOSONOGRAFIA CON TECNICA ARFI  
(ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE)  
PER LO STUDIO DELLE MODIFICAZIONI  
DEI TESSUTI EPIFASCIALI  
NEL LINFEDEMA DELL'ARTO SUPERIORE

Relatore

Prof. Francesco Saverio Ambesi Impiombato

Dottorando

Dr. Alberto Onorato

---

Anno Accademico 2013-14

# Indice

<i>Introduzione</i>	<i>1</i>
<b>Capitolo 1 LA CUTE E IL SOTTOCUTE</b>	<b>3</b>
<b>Capitolo 2 IL LINFEDEMA</b>	<b>7</b>
2.1 Cenni di anatomia funzionale e di fisiopatologia del sistema linfatico	7
2.2 Definizione	11
2.3 Epidemiologia	12
2.4 Eziopatogenesi	12
2.5 Stadiazione	14
2.6 Clinica	15
2.7 Complicazioni	15
2.8 Diagnosi	18
2.9 Terapia	21
<b>Capitolo 3 LE MODIFICAZIONI DEI TESSUTI EPIFASCIALI DETERMINATE DAL LINFEDEMA</b>	<b>31</b>
<b>Capitolo 4 L'ECOGRAFIA NELLO STUDIO DEL LINFEDEMA</b>	<b>42</b>
<b>Capitolo 5 L'ELASTOSONOGRAFIA: PRINCIPI, APPLICAZIONI</b>	<b>46</b>
5.1 Definizione	46
5.2 Principi fisici	47
5.3 Le proprietà elastiche dei tessuti biologici	49
5.4 Tecniche elastosonografiche	51
<b>Capitolo 6 LO STUDIO ELASTOSONOGRAFICO CON LA TECNICA ARFI</b>	<b>56</b>

<b>Capitolo 7 RICERCA SPERIMENTALE: La elastosonografia con tecnica ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) per lo studio delle modificazioni dei tessuti epifasciali nel linfedema dell'arto superiore</b>	<b>63</b>
7.1 Introduzione	63
7.2 Materiali e metodi	66
7.3 Risultati	68
7.4 Discussione	75
7.5 Conclusioni	80
 <i>Bibliografia</i>	 82

## Introduzione

La ricerca qui presentata indaga due ambiti poco conosciuti: il linfedema e l'elastosonografia.

Il primo consiste in una patologia che, per quanto compaia in Italia in 40.000 persone ogni anno e interessi nel mondo almeno 140 milioni di individui, ha in Europa pochissimi centri di riferimento per la diagnosi e per la terapia, con la conseguenza, tra le altre, di potersi raccogliere con difficoltà una casistica adeguata.

L'elastosonografia è una tecnica ecografica poco nota e scarsamente utilizzata, perché tecnologicamente ancora giovane e disponibile soltanto nelle apparecchiature più recenti e ancora di maggior costo; inoltre è ancora da precisare, anche se intuibile, il suo potenziale diagnostico.

Si è scelto di applicare l'elastosonografia allo studio delle trasformazioni che si producono nei tessuti linfedematosi, a causa del cronico ristagno di edema ricco di proteine. E' infatti rilevato dalla clinica e documentato da una non ampia letteratura scientifica, che nel linfedema cronico vi è una progressiva fibrotizzazione dei tessuti interessati. Tali modificazioni hanno limitata possibilità di essere valutate quantitativamente con l'indagine clinica e con le indagini strumentali, in particolare a livello delle strutture più profonde. L'elastosonografia ha la possibilità di unire, con l'immagine data dall'ecografia B-mode, la valutazione dell'elasticità tessutale.

Lo studio ha comportato l'utilizzo di una particolare tecnologia elastosonografica, rappresentata dall'ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse), che permette di ottenere dati quantitativi (quindi facilmente utilizzabili) ed è meno dipendente dall'addestramento dell'operatore.

A questo approccio valutativo è stato affiancato uno più tradizionale, consistente nella valutazione ecografica della comprimibilità dei tessuti linfedematosi: l'intento è stato quello di valutare, mediante comparazione, le possibilità di ciascuna tecnica

Il limite principale dell'indagine è la mancanza in letteratura di dati di riferimento per l'ARFI applicato al linfedema; sono inoltre molto pochi gli studi ecografici della comprimibilità di cute e sottocute. Per tali motivi e per la



relativa esiguità della casistica, l'indagine presentata deve essere considerata uno studio pilota.

L'attesa è che i risultati ottenuti possano dare un nuovo impulso allo studio del linfedema e delle alterazioni da questo determinate, e permettano inoltre di dimostrare il potenziale dell'ARFI nell'indagare distretti corporei diversi da quelli abitualmente studiati, con la possibilità di ipotizzare nuovi ambiti di ricerca, come le diverse patologie del sottocutaneo.

# Capitolo 1

## LA CUTE E IL SOTTOCUTE

La cute è l'organo più grande del corpo umano. In una persona di 70 kg pesa più di 5 kg e copre una superficie di circa 2 m<sup>2</sup>. La cute umana consiste di un'epidermide cellulare, stratificata, e di un sottostante derma connettivale. Al di sotto del derma vi è uno strato di grasso sottocutaneo, che è separato dal resto del corpo da uno strato vestigiale di muscolo striato.

L'epidermide, costituita principalmente da cheratinociti, ha tipicamente uno spessore di 0,05-0,1 mm. E' distinguibile in 4 strati sovrapposti: lo strato basale (che è il più profondo), lo strato spinoso, lo strato granulare e quello corneo. La migrazione cellulare dallo strato profondo, sede della loro replicazione, a quello superficiale dura normalmente 30 giorni. Le cellule dello strato più superficiale sono denominate corneociti; hanno perso nuclei e organuli citoplasmatici, e possiedono un involucro corneo. Altre cellule dell'epidermide sono i melanociti, le cellule del Langherans e le cellule di Merkel.

L'epidermide è attaccata al derma tramite una complessa rete di proteine e glicoproteine che si estendono dall'interno dei cheratinociti basali al derma superficiale. I componenti della giunzione dermoepidermica contribuiscono anche alla migrazione cellulare (ad esempio nella guarigione delle ferite, così come in eventi di interazione epiteliale-mesenchimale). Più di 30 macromolecole (collagene, laminine, integrine) interagiscono all'interno della membrana basale, che è spessa meno di 200 µm.

Il derma è costituito da una matrice di supporto o sostanza basale, in cui proteine e polisaccaridi sono uniti per produrre macromolecole che hanno una grande capacità di trattenere l'acqua. Il suo spessore varia da 0,5 a 5 mm.

Ci sono due tipi principali di fibre proteiche: il collagene e il tessuto elastico. Il collagene è la principale proteina della matrice extracellulare ed assomma all'80-85% del peso secco del derma. I principali tipi di collagene

dermico interstiziale sono i tipi I e III, mentre alla membrana basale dermica il principale è il tipo IV. Le fibre collagene forniscono alla cute le sue proprietà tensili. Le fibre elastiche rappresentano non più del 2-4% della matrice extracellulare del derma e consistono di due componenti, l'elastina e le microfibrille associate all'elastina. Il derma contiene anche glicoproteine non collageniche, come le fibronectine, le fibuline e le integrine. Queste componenti della matrice extracellulare facilitano l'adesione e la motilità delle cellule.

Tra il collagene e il tessuto elastico vi è la sostanza basale, costituita da glucosaminoglicani e proteoglicani. Queste rappresentano soltanto lo 0,1-0,3% del peso secco totale del derma, ma hanno un ruolo vitale perché mantengono l'idratazione, grazie alla capacità dell'acido ialuronico di legare l'acqua. Circa il 60% del peso del derma è dovuto all'acqua.

Il derma ha un supporto ematico molto ricco, anche se nessun vaso passa la giunzione dermoepidermica: Vi sono un plesso vasale superficiale ed uno profondo. Vi è un'innervazione autonoma, di tipo colinergico per le ghiandole sudoripare eccrine, e di tipo adrenergico per le ghiandole eccrine ed apocrine, per la muscolatura liscia arteriolare e per i muscoli erettori dei peli. Le terminazioni sensitive sono di vario tipo: alcune sono terminazioni libere, altre terminano in follicoli piliferi e altre ancora hanno espansioni terminali.

La cute ha diverse funzioni: oppone una barriera meccanica contro l'ambiente esterno; riduce la perdita di acqua dalla superficie corporea; offre una difesa sia mediante antibiotici endogeni a derivazione dai cheratinociti (defensine e catelicidine) che, tramite azione immunitaria mediata dalle cellule di Langerhans; dà protezione dalle radiazioni ultraviolette, mediante l'azione protettiva della melanina; interviene nella termoregolazione, tramite dilatazione e costrizione dei vasi dei circoli profondo e superficiale, e mediante la sudorazione; l'attività delle ghiandole apocrine contribuisce all'odore corporeo (ferormoni).

Tra la cute e le fasce muscolari si dispone uno strato di grasso che costituisce il sottocute (o ipoderma). Esso è presente nella quasi totalità del corpo umano: ne sono prive le palpebre e i genitali maschili. Lo spessore varia secondo razza, età, sesso, stato endocrino e nutrizionale.

Il tessuto sottocutaneo ha le funzioni di strato isolante e di protezione dai traumi; ha un ruolo importante nella termogenesi e rappresenta una riserva di energia prontamente disponibile; dà supporto e ha una funzione cosmetica (ad esempio per i contorni del volto); poiché gli adipociti che lo costituiscono secernono una grande varietà di enzimi, ormoni e citochine, è anche un importante organo endocrino.

In una persona normale rappresenta circa il 10% del peso corporeo e costituisce una riserva energetica per 40 giorni.

Gli adipociti originano nella vita embrionale da cellule mesenchimali primitive, che si differenziano in preadipociti, ma sono anche capaci di una maturazione verso i fibrociti, miociti, condrociti e osteoblasti. I preadipociti possono differenziarsi in adipociti bianchi o bruni.

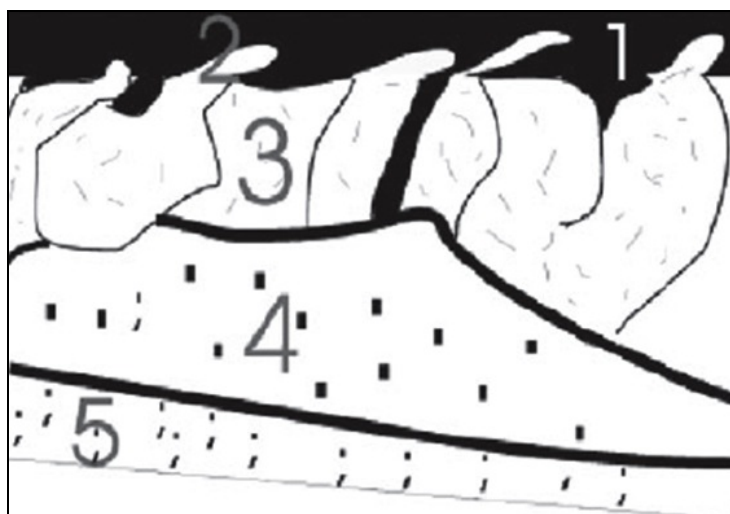
Il grasso bruno è metabolicamente molto attivo, con molti mitocondri, ed è capace di produrre calore; la sua ricca vascolarizzazione permette di trasferire rapidamente il calore alla circolazione ematica. E' soprattutto presente al collo e alla porzione superiore del torace del feto, ma persiste anche durante la vita adulta, potendo avere un ruolo nella prevenzione dell'obesità.

Gli adipociti bianchi sono le più grandi cellule del tessuto connettivo nell'organismo, con un diametro fino a 100  $\mu\text{m}$ . Gran parte della loro differenziazione avviene subito dopo la nascita. La cellula adiposa matura ha il tipico aspetto ad "anello con castone", perché il piatto nucleo ovale è spiazzato da un singolo largo vacuolo intracellulare, contenente grasso.

L'adipocita bianco ha una grande gamma di funzioni: secerne infatti fattori (adipochine) che influiscono su metabolismo lipidico e glucidico, funzioni endocrine, controllo della pressione arteriosa, coagulazione, fibrinolisi, angiogenesi e infiammazione.

Gruppi di adipociti sono aggregati in lobuli, che sono separati da setti interlobulari composti da collagene e fibre reticoliniche. Gli adipociti possono costituire soltanto il 25% della popolazione cellulare totale di un lobulo; le rimanenti costituiscono il tessuto stromovascolare, costituito da macrofagi, fibroblasti, mastociti, periciti, cellule endoteliali e preadipociti, che interagiscono tra loro, determinando la produzione di una quantità ancora

maggiore di fattori. Il grasso sottocutaneo viene diviso da una fascia superficiale in due compartimenti: uno superficiale ed uno profondo. La massa adiposa dello strato superficiale (denominato areolare) è compartimentata in lobuli da setti fibrosi e bande a disposizione verticale e obliqua, mentre nello strato profondo (denominato lamellare) i setti hanno una disposizione maggiormente orizzontale. Lo strato superficiale è abbastanza costante, mentre quello profondo è più variabile.



**Fig.1.1:** Le 5 zone in cui possono essere suddivisi cute e sottocute: la zona 1 corrisponde al derma, la 2 alle estrusioni dell'ipoderma nel derma, le 3-5 corrispondono alla parte superiore, media ed inferiore dell'ipoderma (tratto da Rawlings<sup>1</sup>)

Nel sesso femminile il tessuto adiposo sottocutaneo è più abbondante nelle regioni gluteofemorali e alle mammelle, con una distribuzione denominata ginoide; la distribuzione androide, tipica del maschio, comporta maggiori depositi alle spalle e alle braccia, al collo e alle regioni lombosacrali.

Il tessuto adiposo ha un abbondante supporto vascolare, poiché ogni lobulo è nutrito da un'arteriola terminale proveniente dai vasi che corrono lungo i setti; queste arteriole si suddividono in capillari che entrano in stretto contatto con ogni singola cellula adiposa. Il tessuto adiposo presenta anche un ricco plesso linfatico, che riceve vasi dal derma. Questi vasi linfatici attraversano il tessuto sottocutaneo scorrendo parallelamente alla superficie cutanea, prima di attraversare la fascia profonda e di scaricarsi nei linfonodi regionali.<sup>(2)</sup>

## Capitolo 2

# IL LINFEDEMA

### 2.1 CENNI DI ANATOMIA FUNZIONALE E DI FISIOPATOLOGIA DEL SISTEMA LINFATICO

Il sistema linfatico è costituito da una rete di vasi e di organi linfoidei emolinfopoietici ed emolinfocateretici. <sup>(3)</sup>

A differenza della circolazione ematica, che avviene entro un sistema chiuso di vasi, che originano dal cuore e a questo giungono, la circolazione linfatica avviene entro un sistema “aperto”, che origina dagli spazi interstiziali e si conclude in uno sbocco, che si situa alla confluenza tra vena giugulare interna e vena succlavia, ad entrambi i lati.

Il sistema vascolare linfatico è costituito da vasi di diverso ordine: i più importanti, per distribuzione e per funzione, sono i linfatici iniziali (o, secondo una terminologia consolidata ma datata, capillari linfatici) e i collettori linfatici.

I primi rappresentano la struttura entro la quale avviene il riassorbimento dagli interstizi di fluidi, soluti e materiali corpuscolati. Sono costituiti da cellule endoteliali che in più punti semplicemente sovrappongono i propri margini, per costituire passaggi tra l'ambiente extravasale, rappresentato dagli interstizi, e l'interno del vaso. Le cellule endoteliali poggiano su una membrana basale incompleta e sono ancorate alle strutture connettivali mediante filamenti. Questi filamenti trasmettono alle cellule endoteliali le sollecitazioni meccaniche che avvengono nell'ambito del tessuto.

Quando l'interstizio è in una situazione di quiete, le aperture intercellulari sono beanti, consentendo l'entrata di fluidi e materiali presenti nell'interstizio; in caso di aumento della pressione interstiziale, per contrazione dei muscoli o altre cause interne/esterne all'organismo, i filamenti trasmettono le sollecitazioni funzionali alle cellule endoteliali, causando la chiusura degli

apparati pseudovalvolari, impedendo il reflusso dei materiali presenti all'interno del linfatico iniziale; questi sono invece sospinti centripetamente lungo il sistema vascolare per l'aumento della pressione nella porzione corporea.

I linfatici iniziali formano ampie reti, maggiormente rappresentate a livello del derma cutaneo, ma presenti in pressoché tutte le strutture corporee. Confluiscono in vasi che hanno caratteristiche intermedie tra quelle dei capillari e quelle dei collettori, essendo dotati di una membrana basale continua e di una piccola tonaca muscolare costituita da fibrocellule muscolari lisce; vi sono inoltre alcuni elementi valvolari, mentre non vi sono più aperture tra le cellule endoteliali.

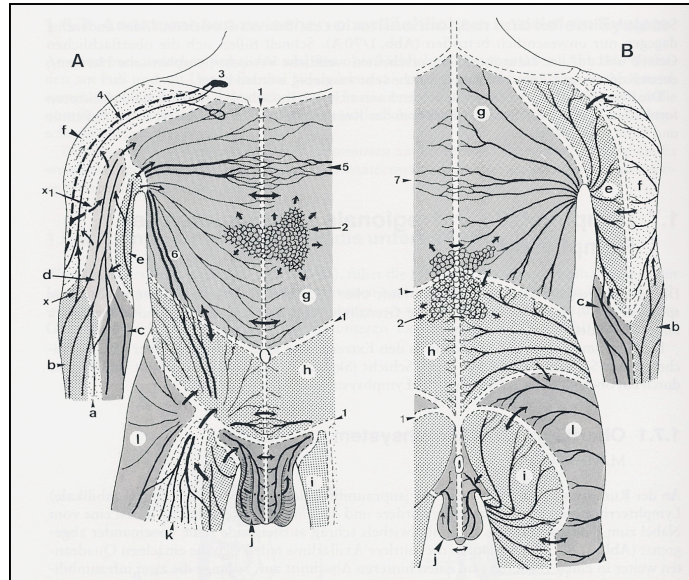
I collettori linfatici rappresentano la vera struttura di trasporto della linfa e per assolvere tale funzione sono dotati di un apparato muscolare che assicura la propulsione del loro contenuto. La struttura è in tre strati, con uno più profondo rappresentato dalla parete costituita da cellule endoteliali e poggiante su una membrana basale; uno strato intermedio è costituito da fibrocellule muscolari lisce; uno strato esterno è rappresentato dall'avventizia connettivale. I collettori linfatici sono valvolati.

Il segmento vasale disposto tra due valvole rappresenta l'unità funzionale linfatica: il linfangione. Il linfangione assicura la propulsione centripeta della linfa, con una contrazione della parete muscolare, innescata dalla sua distensione: l'aumento della pressione determina la chiusura della valvola a monte e l'apertura di quella a valle, con passaggio della linfa nell'unità funzionale posta a valle. La ordinata successione di tali fenomeni da un linfangione all'altro determina la progressione del contenuto lungo il vaso. Le contrazioni quindi di tipo peristaltico e sotto il controllo, oltre che del carico linfatico (cioè della linfa che si produce a livello periferico), del sistema nervoso vegetativo. Recenti studi hanno evidenziato la presenza di una innervazione sia orto- che parasimpatica. <sup>(4)</sup>

Osservazioni su animali hanno dimostrato una frequenza di contrazione di base dei collettori linfatici (6-10 al minuto). In realtà le contrazioni avverrebbero soltanto in caso di distensione della parete del collettore da parte del contenuto vasale, con possibilità di aumento della frequenza anche di

decine di volte, in funzione di incrementi del carico linfatico.

Dai collettori la linfa viene trasferita a strutture vascolari più grosse, rappresentate dai tronchi linfatici e dal dotto toracico, che sono elementi di raccordo e connessione con gli sbocchi nel sistema venoso.



**Fig. 2.1:** I territori linfatici secondo Kubik <sup>(5)</sup>

I linfatici si dispongono a formare due sistemi: uno superficiale ed uno profondo. Il primo è situato nella cute e nel sottocute e raccoglie la linfa prodotta in questi distretti. Secondo Kubik<sup>(5)</sup> i collettori linfatici si distribuiscono in modo caratteristico, in genere indipendente dai decorsi dei vasi ematici, con una disposizione che permette di riconoscere territori linfatici, tributari di specifiche stazioni linfoghiandolari, e separati da “spartiacque”. Dividendo il corpo in una parte destra e una sinistra, in ciascun lato si riconosce il territorio del capo e del collo (tributario dei linfonodi giugulari, delimitato inferiormente da clavicola e spina scapolare e medialmente dalla linea di simmetria), il territorio del torace e dell’arto superiore (ha limite superiore a clavicola e spina scapolare, inferiore alla linea transombelicale e al suo prolungamento posteriore, medialmente alla linea di simmetria, ed è tributario dei linfonodi ascellari), il territorio dell’arto e dell’addome inferiore (con limite superiore a transombelicale e al suo prolungamento posteriore; è tributario dei linfonodi inguinali). Sul decorso dei vasi superficiali



s'interpongono linfonodi intercalari. Il circolo profondo drena muscoli, fasce, articolazioni, nervi, e dispone i suoi collettori lungo i vasi arteriosi principali e le loro ramificazioni; lungo le vie si dispongono stazioni linfoghiandolari e linfonodi intercalari.

Le principali funzioni del sistema linfatico sono rappresentate dal riassorbimento e dal trasporto della linfa tessutale (carico linfatico fisiologico, idrico e proteico) e dalla regolazione della risposta immunitaria specifica. <sup>(3)</sup>

Le grosse proteine, arrivate nell'interstizio con il processo di ultrafiltrazione plasmatica o prodotte dal metabolismo delle cellule tessutali, possono essere riassorbite solamente attraverso il sistema linfatico giacchè, per ingombro sterico, non possono essere riassorbite attraverso il sistema venoso.

Un'ulteriore funzione, la cui conoscenza è fondamentale per la comprensione della fisiopatologia del linfedema, è la "riserva funzionale". Quest'ultima, definita da Földi come "funzione di valvola di sicurezza", è rappresentata dalla possibilità del sistema linfatico di incrementare la propria attività di riassorbimento e di trasporto in caso di aumento della produzione della linfa tessutale (ad esempio nel caso d'insufficienza venosa). <sup>(3)</sup>

Il sistema linfatico (o più appropriatamente una sua porzione) può diventare insufficiente, e quindi incapace di drenare i fluidi presenti nell'interstizio. Indipendentemente dalla causa dell'insufficienza, l'effetto è il ristagno di fluidi e la manifestazione di edema.

Si distinguono due tipi d'insufficienza, con aspetti fisiopatologici e clinici molto diversi:

- insufficienza linfatica di tipo dinamico;
- insufficienza linfatica di tipo meccanico.

Nel primo caso si determina il superamento della capacità di trasporto di un sistema non alterato. Conseguenza ad un iperafflusso di fluidi nell'interstizio, per aumento del processo di ultrafiltrazione al capillare, con diverse possibili cause:

- aumentata permeabilità della parete capillare ematica, come nei processi flogistici;
- aumentata pressione capillare ematica, come nell'insufficienza

venosa;

- alterazione del gradiente della pressione oncotica tra lume del capillare ematico ed interstizio, come in caso di ipoalbuminemia.

La cronicizzazione di una condizione d'insufficienza dinamica porta inesorabilmente alla progressiva instaurazione di un'insufficienza meccanica.

L'insufficienza linfatica di tipo meccanico è causata da un'alterazione, primitiva o acquisita, del sistema linfatico, con riduzione della capacità di trasporto. La condizione si manifesta ogni qualvolta il normale carico linfatico supera tale capacità, con la comparsa di edema che è tipicamente ricco in proteine. Tale evenienza configura l'instaurazione del linfedema.

Il linfedema può interessare qualsiasi parte del corpo: gli arti inferiori, gli arti superiori, i genitali, il tronco, il collo, il viso.

## 2.2 DEFINIZIONE

Il linfedema è una patologia cronica che, nei Paesi occidentali, si sviluppa più comunemente a causa di una lesione del sistema linfatico, occorsa come conseguenza delle terapie del cancro.<sup>(6,7)</sup>



**Figg. 2.2 e 2.3:** Linfedema di arto superiore e linfedema di arto inferiore.

E' caratterizzata dall'accumulo nei tessuti di fluidi ricchi di proteine, in conseguenza di un'insufficienza meccanica del sistema vascolare linfatico.

Rappresenta un'entità nosologica vera e propria, che può manifestarsi come condizione isolata, o come parte di un quadro sindromico più complesso (come nel caso di diverse sindromi mal formative).

Comporta una deformazione del segmento affetto, la possibile insorgenza di complicazioni di vario tipo, e anche conseguenze sul piano psicologico, legate alla deformità e soprattutto al timore di peggioramento, complicazioni e alla ripresa della malattia oncologica <sup>(8,9)</sup>.

## **2.3 EPIDEMIOLOGIA**

Secondo dati OMS nel mondo vi sarebbero almeno 140 milioni di persone con linfedema, con i tumori maligni e i loro trattamenti quali prima causa nei paesi occidentali, mentre nei paesi subtropicali l'infestazione da filaria rappresenta una delle cause più importanti. In Italia una ricerca ormai datata ha riportato in 40.000 i nuovi casi di linfedema attesi ogni anno.

La prevalenza del linfedema dopo chirurgia per cancro mammario varia tra meno del 10% fino al 50%. <sup>(10, 11, 12, 13, 14, 15)</sup> Secondo Mortimer l'incidenza è del 28%. <sup>(16)</sup> Secondo Sener l'incidenza è del 17% in caso di dissezione ascellare e del 3% in caso di asportazione del solo linfonodo sentinella. <sup>(17)</sup>

In caso di chirurgia radicale e radioterapia per cancro dell'utero vi è un'incidenza del linfedema del 40%, che sale al 70% nel maschio, per chirurgia radicale di un cancro del basso addome. Si calcola inoltre che la dissezione dei linfonodi ilio-inguinali sia complicata da linfedema nel 30% dei casi, con un incremento all'80% in caso di ritardata guarigione della ferita chirurgica. <sup>(18)</sup>

## **2.4 EZIOPATOGENESI**

Il linfedema è il risultato finale dell'azione di una o più cause diverse (in Fig. 2.4 è riportata la classificazione eziologica), ciascuna delle quali, attraverso un danneggiamento delle strutture deputate al suo trasporto, ostacola il deflusso della linfa da distretti corporei più o meno ampi.

Le forme primarie conseguono ad aplasia, ipoplasia o iperplasia delle strutture linfatiche. Possono essere geneticamente trasmesse e ritrovarsi quindi in più membri di una stessa famiglia, oppure si tratta di forme sporadiche. Il linfedema congenito ereditario (m. di Milroy) viene distinto in:

- tipo I o sindrome di Nonne-Milroy, con manifestazione perinatale;
- tipo II o sindrome di Meige, con manifestazione alla pubertà.



**Fig. 2.4:** Classificazione eziologica del linfedema.

Nei paesi industrializzati, le forme secondarie riconoscono nelle terapie del cancro la causa principale. Terapie chirurgiche e radianti determinano interruzioni e danneggiamenti delle vie linfatiche, cui conseguono, a distanza variabile di tempo e comunque in una percentuale di soggetti, gonfiore dei settori corporei posti a monte della zona trattata.

Altre procedure diagnostiche o terapeutiche possono portare a tale risultato, come nel caso di alcune biopsie di linfonodi inguinali.

Nei casi in cui le terapie del cancro non siano eseguibili o non siano state efficaci, a causa dell'infiltrazione o della compressione neoplastica si determinano linfedemi particolarmente importanti dal punto di vista del volume e della consistenza.

In questi casi si accompagnano diversi elementi clinici (più evidenti tra i

quali vi sono il dolore e la presenza di circoli venosi superficiali di compenso).  
Altre cause di linfedema possono essere i traumi.

## 2.5 STADIAZIONE

La stadiazione dell'International Society of Lymphology distingue, nel linfedema degli arti, 4 stadi:

- stadio 0 (o Ia): si riferisce ad una condizione latente o subclinica, in cui l'edema non è ancora manifesto, nonostante l'insufficienza meccanica del circolo linfatico, ma in cui ci sono già delle modifiche nella quantità di fluidi tissutali e alcuni sintomi (senso di peso, tensione, affaticamento);
- stadio I: il gonfiore è manifesto ma regredisce con la sopraelevazione del segmento affetto; la fovea può essere imprimevole; vi può essere la proliferazione di diversi elementi cellulari;
- stadio II: la sopraelevazione del segmento non è più sufficiente per far regredire il gonfiore; la fovea è imprimevole, anche se, con la persistenza del gonfiore e la fibrotizzazione dei tessuti, si determina in genere una progressiva riduzione della cedevolezza tissutale;
- stadio III: consiste nell'elefantiasi linfostatica, con possibile assenza del segno della fovea, ulteriore deposizione di tessuto fibroso e adiposo, e con comparsa di alterazioni cutanee, che vanno dall'ipercheratosi alla verrucosi linfostatica.

La stadiazione suddetta si riferisce al solo esame fisico dell'arto.

Elementi che possono essere aggiunti, per meglio differenziare la condizione individuale sono:

- entità dell'incremento volumetrico: distinguibile in minimo (<20%), moderato (tra 20 e 40%), severo (>40%);
- estensione;
- presenza di flogosi;

- classificazione ICF;
- indicatori della Qualità di vita.

## **2.6 CLINICA**

L'elemento clinico fondamentale è rappresentato dal gonfiore del segmento posto a monte della zona di insufficienza meccanica del circolo linfatico. La sua insorgenza può avvenire in assenza di fattori scatenanti, come accade nelle forme primarie, o si collega ad eventi lesivi più o meno cronologicamente vicini, quali ad esempio una dissezione linfoghiandolare, applicazioni radioterapiche o traumi in corrispondenza di importanti vie linfatiche e stazioni linfonodali. In una prima fase, in assenza di gonfiore, vi possono essere soltanto sintomi soggettivi, rappresentati da un senso di peso o tensione dei tegumenti. Successivamente si instaura un gonfiore abitualmente modesto, morbido, improntabile, che scompare transitoriamente a seguito del decubito o della sopraelevazione del segmento. In una fase ulteriore l'edema non scompare più, se non a seguito dell'applicazione delle terapie specifiche. I tessuti interessati tendono ad avere una consistenza aumentata, con una fovea sempre meno imprimibile; le pieghe cutanee tendono ad approfondirsi progressivamente. L'evoluzione verso lo stadio più avanzato, di elefantiasi, comporta il netto incremento volumetrico del segmento linfedematoso, con una cute marcatamente alterata, con modificazioni che vanno dalla ipercheratosi fino a forme proliferative di tipo similepiteliomatoso.

La conseguenza inevitabile di tale evoluzione è l'instaurazione di una disabilità crescente, sia somatica che psicologica.

## **2.7 COMPLICAZIONI**

Il linfedema persistente da anni va abitualmente incontro a diverse alterazioni cutanee (indicate in tabella 2.1). Alcune hanno andamento cronico, mentre altre sono acute.

• <b>Ipercheratosi</b>
• <b>Verrucosi e papillomatosi cutanea linfostatica</b>
• <b>Cisti e fistole linfatiche</b>
• <b>Ulcera</b>
• <b>Intertrigo</b>
• <b>Follicolite</b>
• <b>Infezioni cutanee profonde</b>
• <b>Volatile abacterial dermatitis</b>
• <b>Pemfigoide bolloso</b>
• <b>Sindrome di Sweet</b>
• <b>Necrolisi epidermica tossica</b>
• <b>Angiosarcoma (S. di Stewart-Treves)</b>
• <b>Sindrome delle unghie gialle</b>

**Tabella 2.1:** Alterazioni cutanee che possono complicare il linfedema (tratto da Onorato<sup>19</sup>)

La frequenza di tali modificazioni è varia: si va dalla comunissima ipercheratosi al raro angiosarcoma.<sup>(19)</sup>

L'ipercheratosi è causata da alterazioni dello strato corneo dell'epidermide, con suo ispessimento: la cute diventa dura, squamosa, e assume una colorazione brunastra (figura 2.5).

La verrucosi e la papillomatosi cutanea linfostatica sono causate dall'ispessimento di epidermide e derma, con linfangiectasie del derma papillare. Consistono in estroflessioni del mantello cutaneo, che possono avere le dimensioni da quelle di un granello di pepe a quelle di un pisello (figura 2.6).

Il reflusso di linfa lungo collettori e linfatici iniziali porta alla dilatazione di questi vasi, con possibile formazione di piccole cisti cutanee. La loro rottura porta alla comunicazione tra vaso linfatico e cute (fistola linfatica) e al gemizio di linfa (linforrea).

Infezioni cutanee profonde sono rappresentate dall'erisipela (interessante il derma) e dalla cellulite (colpisce l'ipoderma). L'erisipela è caratterizzata clinicamente da un arrossamento cutaneo intenso, rapidamente invasivo, con limite nettamente demarcato rispetto alla cute sana; coesistono i

sintomi di un impegno generale, tra i quali una febbre elevata preceduta da brivido. Nella cellulite il quadro è caratterizzato da eritema, aumento del



**Fig. 2.5:** Ipercheratosi cutanea

termotatto, dolore; possono coesistere sintomi e segni di impegno generale. Vi è il rischio della complicanza setticemica.

L'angiosarcoma (S. di Stewart-Treves) <sup>(19)</sup> è un tumore maligno della pelle che si sviluppa generalmente in tessuti interessati dal linfedema cronico; occasionalmente origina da aree radio trattate. Clinicamente si manifesta come nodulo sottocutaneo livido, con attorno petecchie e telangectasie. Nella maggior parte dei casi la crescita locale del tumore e le metastasi portano rapidamente alla morte del paziente.

Secondo recenti teorie, l'insorgenza di alterazioni di tipo infettivo, disimmunitario e neoplastico sarebbe favorita da una compromissione immunologica del distretto interessato. <sup>(19)</sup>



**Fig. 2.6:** Papillomatosi linfostatica



## 2.8 DIAGNOSI

Un'accurata diagnosi del linfedema è necessaria per l'indicazione della terapia appropriata.

Nella maggior parte dei pazienti la diagnosi può essere determinata sulla base dell'anamnesi e della visita. In altre persone, la presenza di fattori confondenti quali obesità, lipodistrofia, disfunzione endocrina, insufficienza venosa, trauma occulto ed infezioni recidivanti, può complicare il quadro clinico. Inoltre, in caso di linfedema unilaterale degli arti, specialmente nell'adulto deve essere considerata la possibilità di un tumore occulto viscerale, che comprime o infiltra le vie linfatiche. Per tali ragioni, è necessaria un'accurata valutazione medica prima di instaurare il trattamento del linfedema.

Comorbidità quali lo scompenso cardiaco congestizio, l'ipertensione arteriosa e disturbi cerebrovascolari possono influire sulla scelta del trattamento.

### *Diagnostica per immagini*

Se la diagnosi di linfedema è poco chiara o vi è la necessità di precisare prognosi e terapia, è raccomandabile la consulenza di un linfologo o l'invio ad una Clinica linfologica, se accessibile.

La linfoscintigrafia si è dimostrata particolarmente utile nell'individuare la specifica anomalia linfatica. Il limite è rappresentato dalla sua insufficiente standardizzazione: sono utilizzati diversi tipi di tracciante, con dosi diverse, differenti volumi d'iniezione, siti d'iniezione cutanei e sottocutanei, epi- o sottofasciali, iniezioni singole o multiple, differenti protocolli di attività fisica passiva o attiva, diversi tempi di presa dell'immagine, tecniche statiche e/o dinamiche.

Ciononostante l'esame può essere facilmente ripetuto, offrendo una rimarchevole visione della disfunzione linfatica.

Inoltre, la linfoscintigrafia offre immagini dinamiche sia dei linfatici che

dei linfonodi nel sistema periferico e centrale, così come dati semiquantitativi sul trasporto del radiotracciante (e quindi della linfa).

Non richiede la somministrazione intradermica del “blue-dye” (spesso usato per la visualizzazione del linfonodo sentinella in ascella o all’inguine). La somministrazione del blue-dye è occasionalmente complicata da una reazione allergica cutanea o da reazioni anafilattiche. Inoltre, l’interpretazione della somministrazione del colorante vitale (“blue test”) è spesso confondente.

La linfografia diretta con contrasto oleoso (esame indaginoso e occasionalmente associato a complicazioni minori e maggiori) è usata raramente, ed è riservata a condizioni complesse come la sindrome da reflusso chiloso e le lesioni del dotto toracico.

Studi Ecocolordoppler e occasionalmente la flebografia sono utili per esaminare il sistema venoso profondo e completare così l’iter diagnostico in caso di edema delle estremità.

Altri metodi d’indagine, rivolti alla diagnosi del linfedema e delle linfangiodisplasie, sono rappresentati da RM (incluse angiografia-RM e linfangioRM), TC, indagine ecografica, linfografia indiretta (con mezzo idrosolubile), immagini con fluorescenza in prossimità dell’infrarosso, microlinfoangiografia con fluorescenza.

La DEXA, o densitometria bifotonica, può aiutare a definire e classificare l’arto linfedematoso, ma la sua maggior potenzialità è quella di definire i costituenti del gonfiore (in particolare un aumentato deposito di grasso).

La linfografia indiretta e la microlinfangiografia in fluorescenza sono maggiormente utilizzabili nell’ambito della ricerca, poiché meglio utilizzabili per la dimostrazione dei linfatici iniziali e dei collettori superficiali. L’indagine ultrasonora ha un valore pratico nella dimostrazione dei movimenti dei parassiti nella filariosi scrotale, ma sta acquisendo importanza crescente per la dimostrazione delle alterazioni tessutali.

### *Indagini genetiche*

Le indagini genetiche sono diventate disponibili per la ricerca di un limitato numero di sindromi ereditarie specifiche con mutazioni geniche discrete, come nel caso della sindrome linfedema-distichiasi (alterazione genica FOXC2), alcune forme di malattia di Milroy (VEGFR-3), e nella ipotricosi-linfedema-teleangiectasia (SOX18), così come in una varietà di alterazioni cromosomiche.

Altre forme sono rappresentate da: displasia linfatica generalizzata o sindrome di Hennekam (CCBE1), linfedema ereditario tipo 1C (GJC2), linfedema-atresia coanale (PTPN14), Emberger (GATA2), linfedema similMilroy (VEGFC) e sindrome oculodentodigitale (GJA1).

Vi sono molte altre sindromi cliniche che presentano il linfedema come componente, per alcune delle quali è stata individuata una mutazione genica (PTPN11, KRAS, SOS1 e altre nella sindrome di Noonan; MCLMR, KIF11 nella microencefalia-corioretinopatia-linfedema-ritardo mentale).

Inoltre vi sono ricerche per individuare una possibile causa genetica ed epigenetica che possa essere alla base di una predisposizione a sviluppare linfedema secondario nel caso di danno delle vie linfatiche.

### *Biopsia linfonodale*

L'asportazione di linfonodi regionali tumefatti, per la diagnosi di linfedema persistente degli arti, deve essere eseguita con prudenza, poiché l'informazione istologica è raramente utile e tale escissione può aggravare l'edema. Se vi è il sospetto di una lesione maligna una valida alternativa è rappresentata dall'esame citologico su agoaspirato eseguito da patologo esperto.

L'uso della biopsia del linfonodo sentinella prelevato in ascella o all'inguine, per la stadiazione di tumori quali il cancro della mammella e il melanoma, sembra avere diminuito l'incidenza di linfedema periferico, avendo impedito la rimozione dei linfonodi normali. Tuttavia, nel caso di un incremento nel numero di linfonodi prelevati, vi può essere una riduzione degli effetti protettivi.

In futuro i test per queste e altre mutazioni conosciute, così come per altre che saranno scoperte, diventeranno sicuramente routinarie e insieme ad una accurata descrizione fenotipica della condizione permetteranno la classificazione delle sindromi linfangiodisplasiche familiari e di altre alterazioni congenite/genetiche-dismorfogenetiche caratterizzate da linfedema, linfangiectasia e linfangiomatosi.

## **2.9 TERAPIA**

La terapia del linfedema è sostanzialmente palliativa e mirata primariamente alla prevenzione della progressione. <sup>(20)</sup> Viene distinta in conservativa e chirurgica.

Tutti i trattamenti si giovano dell'azione preventiva rappresentata dall'igiene e dalla cura della pelle, tramite la pulizia e l'uso di lozioni a basso pH e ad azione emolliente.

La precocità dei trattamenti assicura i migliori risultati.

Per tutte le persone sottoposte a trattamento sono utili esercizi di mobilizzazione degli arti, in particolare in combinazione con la compressione esterna del segmento. Recenti studi hanno dimostrato l'utilità di eseguire esercizi vigorosi, anche se in condizioni adeguate. Anche metodiche largamente utilizzate richiedono la meta-analisi di più studi, eseguiti rigorosamente, ben controllati e con sufficiente follow-up. Buoni studi che confrontino differenti metodi di trattamento non esistono.

### *TERAPIA FISICA E ADIUVANTE*

L'esecuzione della Fisioterapia Combinata Decongestionante (FCD) è supportata da una lunga esperienza. E' applicabile sia nei bambini che negli adulti e si costituisce di due fasi. Nella prima sono eseguite la cura della pelle, il linfodrenaggio manuale, elastocompressioni mediante applicazioni di bendaggi multistrato utilizzando bende a corto allungamento, ed esercizi su tutto l'arco di movimento articolare. La fase 2, iniziata subito dopo la prima, ha lo scopo di conservare ed ottimizzare i risultati ottenuti. Consiste nella

prosecuzione della cura della pelle, nell'utilizzo d'indumenti elastocompressivi costituiti da materiali con corto allungamento, nell'esecuzione di esercizi articolari e, con una frequenza che varia da caso a caso, nell'esecuzione di linfodrenaggi.

I prerequisiti per una terapia efficace sono:

- la possibilità di rivolgersi a personale medico, fisioterapico ed infermieristico specificatamente educato ed addestrato, oltre che esperto in questo metodo;
- la disponibilità di una copertura dei costi economici delle cure, da parte delle strutture pubbliche o delle assicurazioni;
- la possibilità delle industrie di offrire materiali di qualità.

I bendaggi elastocompressivi se mal applicati sono inutili o dannosi; pertanto dovrebbero essere eseguiti soltanto da personale esperto.

La produzione di presidi compressivi di tipo diverso può ridurre, in alcuni pazienti, il costo del bendaggio e forse migliorare la compliance all'intero programma di trattamento; inoltre, alcuni clinici trovano che strategie per l'autotrattamento e strategie per la riduzione del rischio aiutano a mantenere la riduzione dell'edema (anche se nessuna di queste è stata sottoposta a studi rigorosi).

La Fisioterapia Combinata Decongestionante può anche essere utilizzata per la palliazione, in caso di linfedema secondario a compressione/infiltrazione neoplastica dei linfatici. Il trattamento viene tipicamente eseguito insieme alla chemio- e radioterapia, indirizzate alla regressione della massa neoplastica.

In linea teorica, il massaggio e la compressione meccanica possono promuovere le metastasi, mobilizzando cellule tumorali quiescenti, sebbene soltanto infiltrati carcinomatosi diffusi, che si sono già estesi ai collettori linfatici come trombi tumorali, potrebbero essere mobilizzati da tali trattamenti. Poiché la prognosi a lungo termine per tali persone in stadio avanzato di malattia è sfavorevole, ogni intervento per ridurre un gonfiore disturbante ha chiaramente un significato palliativo.

La prescrizione d'indumenti elastici composti da materiali a corto allungamento (eventualmente eseguiti su misura) è essenziale per il

mantenimento a lungo termine degli effetti ottenuti con la FCD. Tale prescrizione dovrebbe essere eseguita possibilmente da un medico, per evitare un uso inappropriato in una persona con controindicazioni mediche, come un'arteriopatia, sindrome postflebitica dolorosa, o neoplasia viscerale occulta. In genere la compressione più efficace è quella che dà la maggior pressione tollerata dal paziente.

Il fallimento della FCD è confermato soltanto quando il trattamento eseguito in Clinica linfologica da personale addestrato ed esperto è risultato inefficace.

La compressione pneumatica intermittente (pneumomassaggio o pressoterapia), prevede solitamente un programma in due fasi. Dopo l'esecuzione della terapia compressiva, preferibilmente eseguita con una pompa a pressione sequenziale, la riduzione dell'edema viene mantenuta con l'utilizzo di indumenti su misura costituiti da materiali a corto allungamento. La compliance del paziente può essere aumentata da nuovi dispositivi che simulano il massaggio manuale, dal miglioramento del disegno per la copertura del segmento da trattare, dalla facilità di utilizzo e dalla modalità di sequenziazione delle pressioni.

Un'attenta osservazione deve essere dedicata ai possibili effetti sfavorevoli della pressoterapia, quali lo spostamento dell'edema in una porzione più prossimale nell'arto o ai genitali, la produzione di un anello fibrosclerotico alla radice dell'estremità con aumento dell'ostruzione del flusso linfatico.

E' stata descritta ma non sufficientemente valutata la terapia con applicazione sia di drenaggio linfatico manuale che di pressoterapia.

La massoterapia manuale eseguita come monoterapia non risulta efficace nella forma di massaggio classico di sfioramento; inoltre, se eseguito vigorosamente, può comportare un danno dei linfatici. Vi sono pochi studi che attestino l'utilità del drenaggio linfatico manuale in monoterapia (ad es. a scopo preventivo dopo chirurgia oncologica e nel linfedema a recente instaurazione e/o moderato senza instaurazione di fibrosi). Vi è la necessità di studi più robusti per convincere sulla reale efficacia del trattamento.

La compressione intensa eseguita con bendaggi o tubi di gomma (c.d.

“tuyautage”) è probabilmente lesivo dei vasi linfatici e dovrebbe essere utilizzato raramente se non abbandonato del tutto.

Per quanto riguarda la terapia termale, questa viene applicata a migliaia di persone in Europa ed Asia, in combinazione con calore e con la cura della pelle, con riferiti risultati positivi. Tuttavia il valore e l'efficacia della sola termoterapia applicata al linfedema rimangono poco chiari.

In recenti ricerche su piccole casistiche si sostiene l'utilità del Laser a bassa intensità nel ridurre il linfedema; tali risultati vanno verificati con studi più rigorosi.

La semplice sopraelevazione di un arto linfedematoso (in particolare durante il riposo a letto), riduce spesso il gonfiore, in particolare in un linfedema allo stadio I. Se il gonfiore viene ridotto dalla posizione antigravitaria, l'effetto dovrebbe essere mantenuto indossando un indumento elastocompressivo a corto allungamento.

#### *TERAPIA FARMACOLOGICA*

I diuretici sono di utilità limitata nella prima fase della FCD e dovrebbero essere riservati ai pazienti con specifiche comorbidità o complicazioni.

La somministrazione a lungo termine di diuretici va scoraggiata per la sua scarsa efficacia nel trattamento del linfedema e per il rischio di squilibri idroelettrolitici. I diuretici possono essere utili per il trattamento di versamenti in cavità corporee (ad es. ascite, idrotorace) e nell'enteropatia proteinodisperdente.

Pazienti con linfedema periferico da blocco linfatico di origine tumorale possono trarre beneficio da brevi cicli di trattamento diuretico.

I benzopironi a somministrazione orale, comprendenti i rutosidi e i bioflavonoidi, non sono un'alternativa o il sostituto della FCD. La loro azione consisterebbe nell'idrolizzare le proteine tessutali, nel facilitare il loro assorbimento e nello stimolare l'attività dei collettori linfatici. Il loro ruolo quali adiuvanti nel trattamento del linfedema primario e secondario (compreso quello parassitario) non è stato ancora determinato, così come non sono ancora definiti formulazioni e dosaggi appropriati.

Le cumarine ad alti dosaggi sono state associate a tossicità epatica. Recenti ricerche hanno associato tale tossicità ad una scarsa attività dell'enzima CYP2A6, propria delle persone che hanno evidenziato tale effetto.

Gli antibiotici vanno somministrati per le infiammazioni acute da stasi linfatica (celluliti/linfangiti o erisipele). Questi episodi sono tipicamente caratterizzati da eritema, dolore, febbre alta e, talora, da shock settico. Moderati eritemi della cute senza sintomi e segni sistemici non significano necessariamente che vi sia un'infezione di origine batterica. Se, nonostante una FCD ottimale, vi è la ricorrenza di episodi di tipo settico, è consigliabile la somministrazione profilattica di penicillina o di antibiotici ad ampio spettro. Comuni complicazioni del linfedema sono le infezioni fungine, che possono essere trattate con farmaci antimicotici. Nella maggior parte dei casi è utile il lavaggio delle mani con un blando disinfettante e l'applicazione di una crema ad azione antimicrobica/antifungina.

In caso d'infestazione da filaria, sono raccomandate la dietilcarbamazina, l'albendazolo o l'ivermectina. L'uccisione dei nematodi adulti con questi farmaci (effetto macrofilaricida) è variabile e può essere associato ad una risposta immune/infiammatoria dell'ospite, con aggravamento del blocco linfatico.

L'efficacia a breve e lungo termine degli antibiotici (es. penicillina o doxiciclina) per prevenire l'elefantiasi in soggetti con filariosi linfatica è da dimostrare.

La somministrazione con mesoterapia di ialuronidasi o farmaci analoghi per ridurre la compattezza della matrice extracellulare è di beneficio incerto e può essere pericolosa, oltre che gravata da complicazioni.

L'efficacia di una terapia immunologica, incrementando l'immunità con l'iniezione intrarteriosa di linfociti autologhi è ancora da dimostrare.

Nessuna particolare dieta si è dimostrata efficace per forme di linfedema periferico non complicato. Comunque, in soggetti obesi la riduzione dell'apporto calorico insieme con un programma supervisionato di esercizi è importante per ridurre la massa dell'arto.

La restrizione dell'apporto idrico non ha prova di efficacia nel linfedema periferico.



Nelle forme da reflusso chiloso (es. linfangiectasie intestinali), è efficace, soprattutto nei bambini, l'assunzione di una dieta povera di trigliceridi a lunga catena (assorbiti a livello dei linfatici intestinali) e ricca in trigliceridi a catena di corta o media lunghezza (assorbiti dalla sistema della vena porta).

Specifiche supplementazioni vitaminiche possono essere necessarie in caso di dieta povera di grassi.

### *RIABILITAZIONE PSICOSOCIALE*

Il supporto psicosociale, con una valutazione e il miglioramento della qualità di vita, fa parte di ogni programma di trattamento del linfedema.

### *TRATTAMENTO CHIRURGICO*

Gli interventi chirurgici miranti ad allievare il linfedema mediante il miglioramento del ritorno linfatico hanno guadagnato crescente favore, ma solitamente richiedono l'FCD o altri tipi di compressione per mantenere la riduzione dell'edema e assicurare il funzionamento vascolare e degli shunt. Le procedure microchirurgiche rappresentano al momento la miglior possibilità di cura per i disturbi del flusso linfatico. In pazienti attentamente selezionati, queste procedure agiscono come un adiuvante della FCD o sono adottate quando la FCD si è dimostrata inefficace; la recente ricerca si è anche focalizzata sul trattamento preventivo in soggetti ad alto rischio.

Le indicazioni al trattamento chirurgico includono la riduzione del linfedema che ha risposto insufficientemente (meno del 50%) a terapia medica e fisica ben condotte, episodi ricorrenti di linfangite, dolore intrattabile, peggioramento della funzione dell'arto, insoddisfazione del paziente per il risultato della terapia conservativa e intenzione di sottoporsi alle procedure chirurgiche.<sup>(21)</sup>

La resezione chirurgica è la tecnica operatoria più diffusamente utilizzata per ridurre il volume del linfedema. La liposuzione o "lipectomia", per ridurre l'eccesso di deposizione di grasso sta diventando sempre più diffusa, in molte nazioni.

In alcuni centri specializzati, il trattamento chirurgico può essere oggi l'approccio preferito, entro specifiche linee guida.

### *Procedure microchirurgiche*

Questo approccio chirurgico ha il fine di aumentare il tasso di ritorno linfatico nella circolazione ematica. Le metodiche ricostruttive comportano l'uso di collettori linfatici o l'interposizione di un segmento venoso per ripristinare la continuità linfatica in caso di linfedema dovuto ad una interruzione locale del sistema linfatico. Trapianti autologhi di vasi linfatici ripristinano la normale fisiologia e hanno dimostrato funzionamenti per più di 10 anni. E' generalmente limitato al linfedema periferico monolaterale dell'arto inferiore, per la necessità di un arto sano per prelevare l'innesto, ma è stato eseguito per linfedema di entrambi gli arti superiori, laddove vi era la possibilità di eseguire il prelievo da entrambi gli arti inferiori sani.

Gli shunt linfonodali-venosi, primi interventi microchirurgici di tipo derivativo, sono attualmente utilizzati soltanto nelle aree di endemia della filaria. Sono stati ampiamente sostituiti dalle anastomosi linfatico-venose, in cui uno o più collettori sono collegati ad una vena principale.<sup>(21)</sup>

L'esperienza di 25 anni con queste procedure suggerisce che i risultati maggiori per entità e durata si ottengono per una loro precoce esecuzione, prima che si instauri il danno della parete e il disturbo della contrattilità dei vasi linfatici.

Pertanto, le indicazioni a questo tipo di intervento sono: malattia in fase iniziale (Ib, II, inizio III); dimostrazione linfoscintigrafica di una scarsa captazione ai linfonodi ascellari o inguinali o mancato passaggio del tracciante oltre queste aree linfoghiandolari prossimali; eccellente compliance del paziente; possibilità di riferire il paziente ad un centro di linfologia per un trattamento conservativo integrativo.<sup>(21)</sup>

La microchirurgia può anche essere eseguita preventivamente, secondo la procedura "Lymphatic microsurgical preventive healing approach" (LYMPHA), che consiste nell'esecuzione di anastomosi linfatico-venose tra i linfatici del braccio e i rami collaterali della vena ascellare in concomitanza

con la dissezione ascellare. Il confezionamento della connessione alla porzione superolaterale dell'ascellare previene i danni da irradiazione. L'efficacia a lungo termine è stata dimostrata sia clinicamente che linfoscintigraficamente a distanza anche di 15 anni. <sup>(22)</sup>

### *Liposuzione*

La liposuzione ha dimostrato di ridurre del tutto o fortemente il linfedema degli arti non improntabile e non fibrotico, dovuta ad un'eccessiva deposizione di grasso, sia nel linfedema primario che in quello secondario (e in pochi studi in caso di lipedema).

E' stata recentemente sviluppata una nuova tecnica di linfolipoaspirazione, che consente di trattare le persone con linfedema in stadio avanzato, rispettando attentamente i vasi linfatici. Questi infatti sono evidenziati utilizzando il colorante vitale "patent blue" e la visualizzazione fotodinamica con indocianina verde. <sup>(23)</sup>

Questo tipo d'intervento e il follow up dovrebbero essere eseguiti da team di chirurghi, fisioterapisti ed infermieri esperti per ottenere e mantenere un risultato ottimale.

### *Resezione chirurgica*

L'intervento più semplice è quello di "debulking", cioè di riduzione, con asportazione dell'eccesso di cute e sottocute dall'arto linfedematoso. Il principale svantaggio è che i collaterali linfatici superficiali della cute sono rimossi o ulteriormente oblitterati.

Dopo FCD intensiva, pieghe cutanee ridondanti possono richiedere una resezione. L'intervento riduttivo sarebbe utile nel trattamento del linfedema fibrosclerotico in fase avanzata (elefantiasi). Cautela dovrebbe essere osservata nella rimozione di linfonodi rigonfiati o masse dei tessuti molli (ad es. linfangiomi) dall'arto affetto poiché vi può essere un peggioramento del linfedema.

Trasposizioni omentali, connessioni enteromesenteriche e l'impianto di tubi e fili non hanno dimostrato risultati a lungo termine e dovrebbero essere evitate, in mancanza di ulteriori evidenze scientifiche.

#### *Trapianto di linfonodi*

Il trapianto di linfonodi superficiali e il loro supporto vascolare da un'area non coinvolta al sito di linfadenectomia per tumore, è stato proposto come approccio sia preventivo che terapeutico del linfedema degli arti. I dati di follow up a lungo termine su rischi ed efficacia sono scarsi.

#### *Altre procedure*

Le sindromi da reflusso chiloso e di altro tipo possono giovare di sclerotizzazioni TC-guidate, della legatura chirurgica di vasi viscerali displasici, e/o di diversioni linfatico-venose dopo studio con imaging multimodale.

#### *VALUTAZIONE DEI TRATTAMENTI*

In ogni persona sottoposta a trattamento, dovrebbe essere eseguita una misurazione del segmento trattato prima, durante e dopo la terapia. Il volume può essere valutato con il metodo della dislocazione d'acqua, può essere stimato con formule matematiche a partire dal rilievo delle circonferenze, misurato con il perometro (strumento per valutazione computerizzata con uso di radiazione infrarossa) o stabilito con altri mezzi. E' desiderabile che i risultati dei trattamenti siano riportati in maniera standardizzata in modo da comparare l'efficacia dei diversi protocolli di trattamento. La valutazione aggiuntiva con linfoscintigrafia (per documentare i cambiamenti funzionali del drenaggio linfatico), DEXA, ecografia o studi RM (per determinare il volume e i cambiamenti della composizione tessutale), la tonometria, l'impedenza bioelettrica e la costante dielettrica tessutale (per valutare alterazioni tessutali e il cambiamento dei fluidi) aggiungerebbe rigore scientifico all'analisi dei

diversi tipi di approccio terapeutico.

Sono utili anche indici psicosociali e misurazioni con analoghi visivi della percezione del paziente.

### *TERAPIA MOLECOLARE*

Nonostante l'ampia ricerca di base e i trials clinici, la terapia molecolare (es. con somministrazione di VEGF-C) non è stata ancora introdotta ancora significativamente nella clinica. Mentre l'aggiunta di fattori di crescita (o inibitori della stessa) risulta una prospettiva attraente, la sua applicabilità è al momento incerta e dovrebbe essere valutata attentamente nel contesto delle comorbidità (presenza del cancro, suoi trattamenti, terapie farmacologiche). <sup>(24, 25, 26, 27)</sup>

### Capitolo 3

## LE MODIFICAZIONI DEI TESSUTI EPIFASCIALI DETERMINATE DAL LINFEDEMA

Il linfedema, se non trattato adeguatamente, tende a peggiorare progressivamente nell'arco di mesi o anni. Nel segmento affetto si determinano un incremento di volume e il graduale aumento della consistenza dei tessuti. I quadri evoluti corrispondono alla condizione di elefantiasi (3° stadio secondo la classificazione internazionale), in cui il segmento linfedematoso presenta un'evidente deformazione, un marcato indurimento dei tegumenti e alterazioni cutanee varie, conseguenti allo stato flogistico cronico e alla frequente instaurazione di complicazioni.<sup>(28)</sup>



**Figg. 3.1 e 3.2:** Linfedema secondario di arto superiore e arto inferiore, al 3° stadio della Classificazione internazionale

Questa progressione si riscontra nei soli edemi cronici ad alto contenuto proteico (caratteristici del linfedema). Tuttavia, nei casi di linfedemi che si sono sviluppati come conseguenza di anormalità pre- o perinatali dei vasi linfatici (ad es. nell'igroma cistico congenito), i tessuti si mantengono ipocellulari e ricchi di fluidi.<sup>(29)</sup>

Nella patologia degli arti il ristagno liquido è prevalentemente localizzato al compartimento epifasciale, con minime modifiche dei muscoli scheletrici.<sup>(30)</sup>

Nonostante la frequenza del linfedema, sono relativamente pochi i dati presenti in letteratura che si riferiscono alle trasformazioni tessutali e ai meccanismi che le sottendono.

#### *I meccanismi molecolari e cellulari della fibrosi: aspetti generali*

La fibrosi è una conseguenza tipica dell'infiammazione cronica, cioè di una risposta immune persistente per diversi mesi e in cui coesistono simultaneamente la flogosi, processi di rimodellamento tessutale e fenomeni riparativi. Nella maggior parte dei processi di fibrosi (ad es. epatica, polmonare, renale, e cutanea e polmonare della Sclerosi Sistemica) vi è un fattore irritativo comune, che sostiene la produzione di fattori di crescita, fattori angiogenetici, enzimi proteolitici e citochine fibrogenetiche. La loro azione stimola la deposizione di elementi del tessuto connettivo (con fibroproliferazione e deposizione di matrice extracellulare) e modificazione della vascolarizzazione: conseguono il progressivo rimodellamento e la distruzione della normale architettura del tessuto.<sup>(31, 32, 33)</sup>

E' stato dimostrato che i meccanismi di regolazione della fibrosi sono in parte distinti da quelli della flogosi.<sup>(34)</sup>

<b>Fegato</b>	Epatite virale, schistosomiasi e alcolismo
<b>Polmoni</b>	Tra le più di 150 cause si includono sarcoidosi, silicosi, reazioni a farmaci, infezioni, artrite reumatoide e Sclerosi Sistemica; nella maggior parte dei casi la causa è sconosciuta
<b>Reni</b>	Diabete mellito, ipertensione arteriosa
<b>Cuore e vasi</b>	Infarto, ipertensione arteriosa, aterosclerosi
<b>Occhio</b>	Degenerazione maculare, retinopatia
<b>Cute</b>	Sclerosi sistemica, ustioni, fattori genetici
<b>Pancreas</b>	Fattori ereditari, autoimmunità
<b>Intestino</b>	Malattia infiammatoria intestinale/m. di Crohn
<b>Encefalo</b>	M. di Alzheimer, AIDS
<b>Midollo osseo</b>	Cancro, invecchiamento
<b>Fibrosi multiorgano</b>	Complicazione di interventi chirurgici, chemioterapici, radiazioni ionizzanti, traumi meccanici

**Tab. 3.1:** Principali tessuti interessati da fibrosi e possibili fattori causali

Lo sviluppo della fibrosi è il risultato della stimolazione combinata da parte di chemochine (ad azione attrattiva nel sito lesionale nei confronti di miofibroblasti, macrofagi ed altre cellule effettrici) e di citochine profibrotiche.

Le chemochine con azione profibrotica più potente sono la CCL3 (proteina 1 $\alpha$  infiammatoria macrofagica, verosimilmente prodotta da macrofagi e cellule endoteliali) e la CCL2 (proteina 1 a chemioattrazione sui chemociti). Vi sarebbe un diretto rapporto, tipo feed-back positivo, tra l'attività delle chemochine CC e la produzione di citochine profibrotiche. <sup>(34)</sup>

Le citochine IL-4, IL-5, IL-13 e IL-21, rilasciate dai linfociti T-helper 2, hanno una potente azione profibrotica. IL-4 è stata riscontrata nella fibrosi polmonare idiopatica, nell'alveolite fibrosante criptogenetica, nella fibrosi periportale e in quella postirradiazione; ha una potenza doppia del TGF $\beta$ . IL-13 è stata ritrovata nella fibrosi polmonare; esibisce una potente stimolazione della produzione di diverse chemochine (CCL3, CCL4, CCL20, CCL2, CCL11, CCL20, CCL6). IL-5 ha una potente azione di stimolo degli eosinofili, che sono un'importante fonte di citochine fibrogene, tra cui TGF $\beta$ 1 e IL-13. IL-21 facilita lo sviluppo della risposta CD4+Th2 e aumenta l'espressione dei



recettori macrofagici per IL-4 e IL-13.<sup>(34)</sup>

Il TGF $\beta$  è un importante regolatore della matrice extracellulare (ECM). All'isotipo 1, prodotto principalmente da monociti circolanti e da macrofagi tessutali, viene attribuito un importante ruolo profibrotico, mediante diretta attivazione delle cellule mesenchimali tessutali e anche delle cellule epiteliali (che si trasformano in miofibroblasti, per transizione epiteliale-miofibroblasta). Il TGF $\beta$ 1 avrebbe anche un ruolo critico nella regolazione dell'attività ontogenetica delle cellule epiteliali limitrofe. Si è comunque osservato che il TGF $\beta$ 1 può avere azione opposta, a seconda del contesto: quello ad origine dai macrofagi esibisce spesso azione profibrotica, mentre quello a derivazione dalle cellule T ha un'azione inibitoria.<sup>(34)</sup>

Tutti i maggiori componenti del sistema renina-angiotensina-aldosterone hanno un'azione profibrotica. Tra questi, l'ANG II ha il maggior ruolo causale nella fibrosi cardiaca conseguente a malattia ipertensiva, e nelle fibrosi epatica e renale. Questa molecola, prodotta localmente da macrofagi e fibroblasti attivati, agirebbe mediante stimolazione della produzione di TGF $\beta$ 1 e stimolando la proliferazione fibroblastica e la trasformazione in miofibroblasti secernenti collagene.

Meccanismi endogeni che ritardano la progressione della fibrosi sono mediati da IL-10 e da IL-13R $\alpha$ 2-Fc. La prima ha un'azione immunosoppressiva generale, inibendo con diversi meccanismi le risposte infiammatorie croniche; inoltre sopprime la sintesi di collagene tipo I da parte dei fibroblasti cicatriziali, mediante una cooperazione con le citochine Th1. La seconda è un importante fattore inibitore dell'azione di IL-13, bloccandone l'interazione col complesso IL-4R.

L'elemento cellulare chiave nel processo di fibrotizzazione è il miofibroblasta che, una volta attivato, diventa il produttore primario di collagene.

Il miofibroblasta può originare da diversi tipi di cellule: da fibroblasti presenti nel tessuto, da cellule epiteliali (con un processo denominato "transizione epiteliale-mesenchimale"), da cellule circolanti similfibroblastiche derivanti da cellule staminali del midollo osseo (hanno fenotipo

similfibroblasta/miofibroblasta e sono denominate fibrociti), da particolari cellule presenti in determinati tessuti, come nel caso delle cellule epatiche stellate (sarebbero la fonte primaria di miofibroblasti nella fibrosi epatica); sembra che anche cellule endoteliali possano trasformarsi in miofibroblasti, con un processo denominato “transizione endoteliale-mesenchimale”.<sup>(34)</sup>

Si riconoscono diversi fattori di attivazione dei miofibroblasti. In generale sono coinvolte diverse chemochine e proteine della fase acuta, come la “serum amyloid P”.<sup>(34)</sup>

Nelle forme d’infiammazione cronica di origine infettiva (da batteri, virus, funghi e parassiti) “pattern molecolari patogeno-associati” (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMP) presenti sulla parete del microorganismo mantengono uno stato d’iperattivazione dei miofibroblasti.<sup>(35)</sup>

I PAMP sono riconosciuti da “recettori ricognitori di pattern” (*pattern recognition receptors*, PRR) presenti sulla parete di diversi tipi di cellule, tra cui i miofibroblasti. L’interazione tra PAMP e PRR determina il rilascio di numerose citochine e chemochine ad azione proinfiammatoria, che rappresentano la prima linea di difesa nel corso dell’infezione.

I fibroblasti esprimono sulla loro parete diversi tipi di PRR, tra cui recettori *Toll-like*, la cui attivazione determina la trasformazione della cellula in miofibroblasto.

Nelle forme non infettive, si riconosce ruolo attivante a:

- TGFβ secreto dagli stessi fibroblasti;
- autoanticorpi e IL-6 liberati da linfociti B;
- citochine tipo-TH2, a varia origine cellulare.<sup>(34)</sup>

Tra le diverse cellule presenti nella sede d’infiammazione cronica (macrofagi, linfociti, eosinofili, plasmacellule) un ruolo significativo nella progressione della fibrosi l’hanno i linfociti T CD4+. In particolare, una risposta cellulare dei T helper CD4+ tipo 2 (tramite il rilascio di IL-4, IL-5, IL-13) ha una potente azione nella produzione della fibrosi epatica. In modelli sperimentali su animali si è osservato che la risposta Th2 si associa alla guarigione delle lesioni e alla fibrosi; si è anche riscontrato che una risposta T helper di tipo 1 ha una potente azione antifibrotica, mediata dalla citochina

IFN $\gamma$  e da IL-12; la persistenza di questo tipo di risposta ha una grave azione lesiva tessutale, per stimolazione dell'apoptosi cellulare.

Nel processo di fibrosi si osserva anche un rimodellamento vascolare, che spesso anticipa le ulteriori trasformazioni. A seconda della condizione, vi può essere la progressiva scomparsa dei vasi, come osservato ad esempio nella Sclerosi Sistemica, oppure vi è può essere una proliferazione vasale incontrollata, come si osserva in molte affezioni fibrosanti dell'occhio<sup>(34)</sup>

Se la fibrosi è sufficientemente avanzata, non vi è più la possibilità di una regressione completa.

Poiché la fibrosi avanzata è ipocellulare, è stato ipotizzato che quando non vi sono più mediatori cellulari appropriati vi è una incompleta degradazione cellulare dell'ECM, con conseguente fibrotizzazione irreversibile. Pertanto, la persistenza d'inflammazione è probabilmente necessaria per la completa risoluzione della fibrosi. Un ruolo essenziale, in particolare nelle fasi iniziali della fibrotizzazione, sarebbe esibito dai macrofagi, che avrebbero il ruolo di iniziare la degradazione dell'ECM.<sup>(34)</sup>

La ricerca di approcci per prevenire o ritardare l'insorgenza della fibrosi in diversi organi è primariamente indirizzata all'inibizione di citochine (TGF $\beta$ 1, IL-13), chemochine, metalloproteinasi della matrice, integrine e fattori angiogenetici, come il VEGF. Il rallentamento della fibrosi potrebbe essere ottenuto inibendo la proliferazione fibroblastica o inducendo l'apoptosi dei miofibroblasti. Vi potrebbe essere anche un ruolo delle terapie cellulari, basate sull'uso di progenitori adulti del midollo osseo e cellule staminali.<sup>(36, 37, 38)</sup>

### *I meccanismi molecolari e cellulari delle alterazioni dei tessuti linfedematosi*

Ispettivamente nelle forme evolute di linfedema si rileva una iperplasia dell'epidermide, con ipercheratosi, iperpigmentazione ed eventuale formazione di verruche e papillomi. A livello genitale le protuberanze ricordano spesso il quadro della condilomatosi accuminata. Possono accompagnarsi ulcerazioni oltre a cisti e fistole linfatiche.<sup>(29)</sup>

La modificazione della struttura dei tessuti epifasciali può essere percepita clinicamente col metodo palpatorio: nello stadio I si apprezza una cedevolezza della cute alla pressione digitale, che attesta la presenza di fluidi nei tegumenti, mentre la compattezza tessutale che si apprezza nello stadio III testimonia l'insorgenza di trasformazioni della struttura tessutale.<sup>(29)</sup>

Gli studi sulle modificazioni strutturali dei tessuti epifasciali sono in gran parte datati e beneficiano scarsamente delle osservazioni più recenti sulle caratteristiche delle cellule, sui loro marcatori e sulle proteine prodotte.

Kaiserling<sup>(29)</sup> descrive le seguenti modificazioni, riscontrate con studi di microscopia ottica ed elettronica, oltre che con indagini immunoistochimiche.

Lo studio della struttura della cute e del sottocute rivela un incremento della densità tessutale, per aumento del contenuto in fibre, in cellule e del numero di vasi ematici. L'aspetto peculiare è l'aumento del contenuto in fibre collagene.

La matrice può avere aspetto diverso: amorfo, granulare o finemente fibrillare. Alla microscopia elettronica si rileva un aumento della matrice attorno ai vasi linfatici ed ematici. Attorno ai capillari linfatici si riscontra una membrana basale continua (normalmente è discontinua), talora con l'aspetto di uno spesso strato fibroso. Nella loro prossimità sono state ritrovate fibre collagene con aspetto insolito (a forma di fiore).

Ulteriori alterazioni delle membrane basali sono discontinuità (sia alla giunzione dermoepidermica, che nei vasi ematici e linfatici), modificazioni dello spessore e della densità elettronica.

Le fibre elastiche presentano dissociazioni ed interruzioni.

In singoli casi si sono ritrovati, con indagine immunoistochimica, accumuli perivasali o perineurali di fibronectina.

A livello molecolare un aspetto rilevante è la presenza in molti casi, nello spazio extracellulare, di elevate quantità di metalloproteasi della matrice. Queste agirebbero distruggendo le proteine matriciali, il collagene, la laminina e la fibronectina. Alcuni studi di Kaiserling suggeriscono una relazione tra quantità di metalloproteasi della matrice e attività metabolica del linfedema, con indicazioni prognostiche sulla sua ricorrenza o persistenza. Nelle stesse sedi si ritrovano anche inibitori tissutali delle metalloproteasi, prodotti da

diverse cellule, tra cui fibroblasti e macrofagi.

Dal punto di vista delle modificazioni delle popolazioni cellulari, l'aspetto caratteristico è l'incremento del numero di fibroblasti. Vi è inoltre un netto incremento di dendrociti-CD34+ e CD68+, e di istiociti che esprimono il fattore XIIIa.

Il marker CD34 è una glicoproteina di membrana multifunzionale, espressa da cellule progenitrici della linea ematopoietica, da cellule mielodisplastiche, endoteli vascolari ematici, e cellule sinusoidali epatiche modificate, oltre che da dendrociti interstiziali ubiquitari simili a fibroblasti. Sembra che giochi un ruolo nella regolazione della sintesi di collagene. Le cellule XIIIa+ sembrano originare da monociti migranti e sono classificate come "cellule residenti/macrofagi". Le cellule CD68+ sarebbero macrofagi con aspetto atipico.

Gli studi di Kaiserling non hanno confermato la presenza di miofibroblasti nei tessuti interessati dal linfedema cronico. Infatti, i fibroblasti esaminati non presentavano gli elementi differenziali del miofibroblasto: fascicoli miofilamentosi, corpi densi, immunoreattività positiva per l'actina del muscolo liscio.

I linfociti sono sempre presenti, anche se con varia densità cellulare. Si tratta di linfociti B (con tendenza a disporsi in gruppi) e linfociti T (con tendenza a distribuzione diffusa e con CD4+ più frequenti dei CD8+).<sup>(39)</sup>

E' stato riscontrato un aumento variabile del numero di mastcellule nell'epidermide. E' stata dimostrata una chiara relazione tra il numero delle mastcellule e l'entità della fibrosi; queste potrebbero inoltre avere un ruolo nella proliferazione degli endoteli dei vasi linfatici.

Molto raramente si riscontrano cellule giganti, con due o più nuclei, solitamente associate alle forme parassitarie di linfedema cronico. Si tratterebbe di fibroblasti.

Ulteriori alterazioni sono rappresentate da:

- iperplasia delle fibrocellule muscolari lisce dei collettori linfatici, con aumento del loro contenuto in fibre; le due alterazioni sembrano essere la causa della dilatazione di tali vasi, oltre che

della loro ridotta contrattilità;

- riscontro di periciti attorno ai capillari linfatici (sono normalmente assenti in tali sedi);
- alla microscopia ottica osservazione di un derma ispessito, con presenza di coni tissutali di aspetto verrucoso che si estendono sia verso la superficie tissutale che verso il tessuto adiposo sottocutaneo; a livello genitale questi coni si interpongono tra le fibrocellule muscolari lisce, le cui fibre sono facilmente riconoscibili ed hanno aspetto interrotto.

Kaiserling propone un'interpretazione patogenetica che spiega le trasformazioni che avvengono nei tessuti epifasciali interessati da linfedema cronico, e la conseguente instaurazione di fibrosclerosi.<sup>(18)</sup>

Il normale metabolismo tissutale comporta la produzione di radicali liberi. Questi danneggiano proteine e (per interazione con gli acidi grassi insaturi dei fosfolipidi di parete) le membrane cellulari. Uno dei prodotti di questa ossidazione è il lipoperossido, che esprime a sua volta una azione ossidativa, fintantoché non viene rimosso attraverso il riassorbimento linfatico, o viene neutralizzato dai meccanismi di difesa dell'organismo.

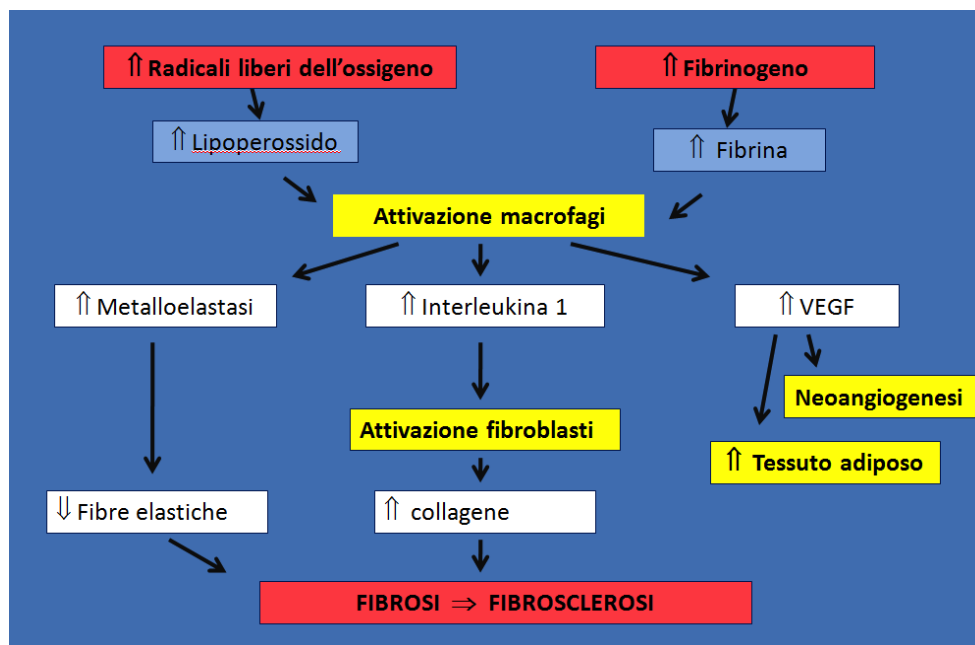
In caso d'insufficienza meccanica della circolazione linfatica, oltre alla formazione di un edema ricco di proteine, vi è una ridotta eliminazione dei lipoperossidi; questi, se non inattivati da altri meccanismi protettivi, si accumulano nell'interstizio. La loro proprietà chemiotattica attira globuli bianchi; i macrofagi, derivanti dall'attivazione monocitaria, fagocitano i complessi proteina-lipoperossido. L'attivazione macrofagica comporta la secrezione di citochine e, per stimolazione da parte dell'interleukina 1, vi è un'attivazione fibroblastica. I fibroblasti liberano collagene che, organizzandosi, va a compattare i tegumenti.

L'attivazione macrofagica comporta la secrezione anche di fattori angiogenetici, come il VEGF (fattore di crescita vascolare endoteliale), con proliferazione vasale che sostiene le esigenze metaboliche dei tessuti neoformati. La neoangiogenesi comporta anche una proliferazione di preadipociti, con conseguente aumento del tessuto adiposo.

Caratteristico degli edemi ad alto contenuto proteico è anche l'aumento del contenuto di fibrinogeno, la cui trasformazione a fibrina comporta nuovamente un'attivazione macrofagica.

Infine vi è la liberazione da parte dei macrofagi anche di metalloelastasi, che causano la degradazione delle fibre elastiche, sostituite dalle fibre collagene.

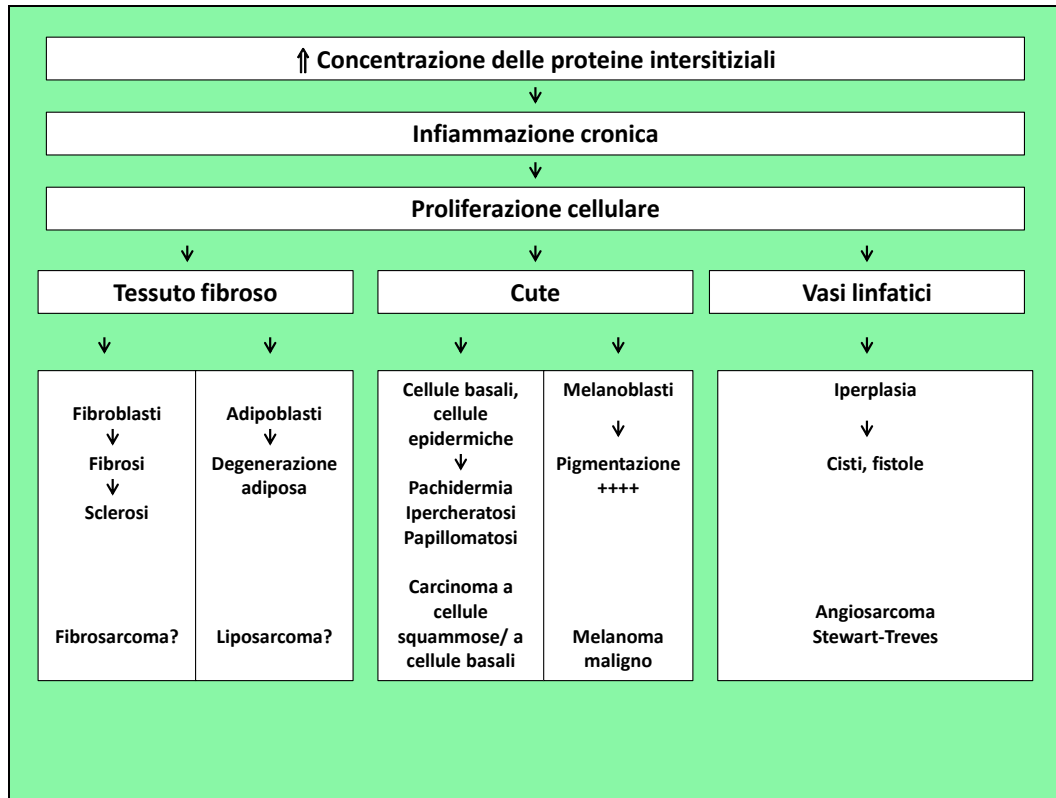
Dalla somma di questi eventi si determina una progressiva fibrotizzazione dei tegumenti interessati dal linfedema, fino alla produzione di un tessuto calloso che caratterizza l'evoluzione a fibrosclerosi.



**Fig. 3.3:** La cascata di eventi scatenata dall'accumulo dei radicali liberi negli spazi interstiziali, in caso d'insufficienza meccanica della circolazione linfatica, con formazione di edema ad elevato contenuto proteico.

In sintesi, la flogosi cronica indotta dall'edema ad elevato contenuto proteico determina una proliferazione di fibroblasti, adipoblasti e cellule degli endoteli vascolari. Ne derivano quindi il processo di fibrotizzazione e di degenerazione adiposa, oltre che processi angiogenetici che portano a cisti e fistole linfatiche. A ciò si aggiunge la stimolazione della proliferazione anche di cellule basali e dell'epidermide, che spiega alterazioni caratteristiche del linfedema (in particolare dell'arto inferiore), quali ipercheratosi, aumento della pigmentazione, verrucosi e papillomatosi linfostatiche.

Gli stimoli proliferativi e la riduzione dell'immunocompetenza del territorio colpito, favoriscono lo sviluppo di tumori delle serie cellulari sovregolate, quali angiosarcomi e, almeno sul piano teorico, melanomi maligni, fibro- e liposarcomi. <sup>(40)</sup>



**Fig. 3.4:** Le linee cellulari la cui proliferazione viene stimolata dal linfedema, ed effetti osservabili (modificato da Weissleder H <sup>40</sup>).



## Capitolo 4

### **L'ECOGRAFIA NELLO STUDIO DEL LINFEDEMA**

L'ecografia è un'indagine strumentale che consente la visualizzazione di strutture corporee profonde, registrando gli echi riflessi originati da impulsi ultrasonori diretti verso le parti in esame.

Presenta diversi vantaggi come la facilità di esecuzione e di ripetizione dell'esame; l'utilizzo di apparecchiature di costo relativamente contenuto, utilizzabili anche in ambulatorio o al letto del paziente; l'assenza di effetti collaterali documentati e il disturbo minimo dato dall'esame; l'assenza di radiazioni ionizzanti; una buona risoluzione spaziale. Il principale svantaggio è la elevata dipendenza dall'addestramento ed esperienza dell'operatore.

Nello studio dei tessuti linfedematosi è una metodica utile, che permette di valutare lo stato dei tessuti molli <sup>(41, 42)</sup>, di misurare gli spessori della cute e dei compartimenti sopra- e sottofasciali <sup>(43,44)</sup>, così come di individuare le raccolte fluide e le aree fibrotiche <sup>(45)</sup>.

Le sonde più adeguate per tali studi sono quelle lineari da 7 MHz. Frequenze più elevate riducono la penetrazione del fascio ultrasonoro ma incrementano la risoluzione: pertanto, per lo studio della cute, la miglior accuratezza diagnostica è data dalle sonde da 20 MHz. <sup>(46)</sup>

Un primo tipo di applicazione dell'Ecografia al linfedema è lo studio della morfologia ecografica di cute e sottocute, come dimostrato da Tassenoy nel linfedema postmastectomia. <sup>(47)</sup> Il derma mostra alterazioni strutturali uniformi, con aspetto ipoecogeno rispetto all'arto controlaterale sano. A livello del sottocute si distinguono tre pattern diversi.

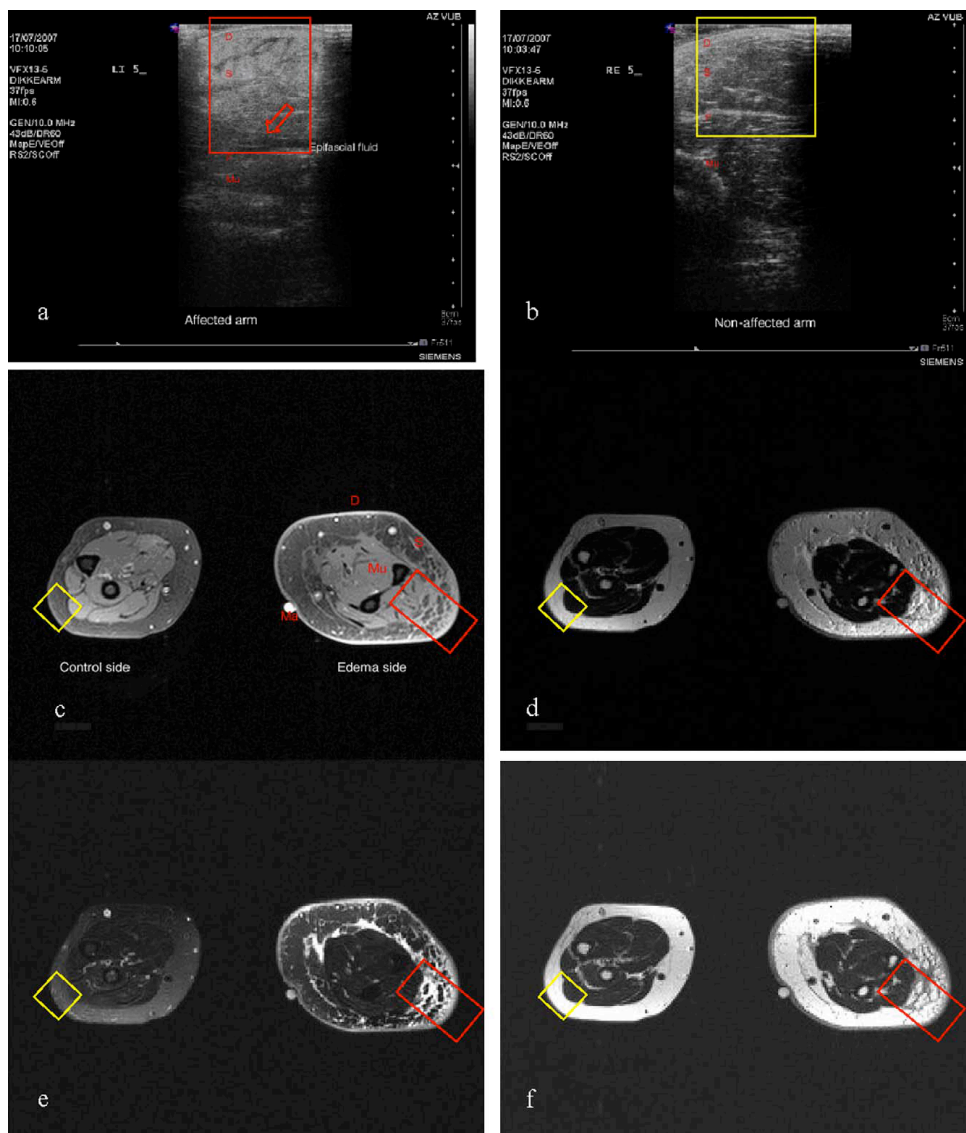
Il primo è più frequente nei linfedemi a recente insorgenza, mentre è meno comune nelle forme croniche stabilizzate; è caratterizzato da una più uniforme ipoecogenicità rispetto al lato sano. Anche il secondo pattern è più frequente nelle forme a più recente insorgenza, ed è caratterizzato da aree iperecogene circondate da strie ipoecogene. Un terzo pattern è osservato in

persone con linfedema cronico, ed è caratterizzato da uno strato sottocutaneo diffusamente iperecogeno.

La correlazione delle immagini ecografiche con lo studio in risonanza magnetica (con immagini T2 pesate e FLAIR) ha dimostrato la presenza di acqua libera nel derma. Riguardo a quanto rilevato nel sottocute, nel primo pattern si evidenzia acqua diffusamente dispersa. Nel secondo pattern vi è un aspetto RM “a nido d’ape”, già descritto ed interpretato da altri autori: secondo alcuni l’immagine è data da agglomerati di grasso circondati da trabecole di tessuto fibroso o da linfatici collaterali dilatati dai fluidi <sup>(48, 49)</sup>; secondo altri dipende da eccesso di fluidi interstiziali tra aree costituite da lobuli adiposi, liberi o intrappolati da fibre collagene. Altre osservazioni hanno individuato la coesistenza di fibrosi e accumulo di fluidi interstiziali, tra i lobuli adiposi. <sup>(50)</sup> Nel terzo pattern ecografico l’RM dimostra la presenza preponderante di cellule adipose, anche se il segnale è più ipointenso rispetto a quello del tessuto adiposo.

Come dimostrato da Naouri, l’ecografia cutanea ad alta risoluzione permette di differenziare il linfedema dal lipedema. <sup>(51)</sup> Il lipedema è una condizione che colpisce il sesso femminile, caratterizzata da un ingrossamento simmetrico degli arti inferiori (dovuto all’ispessimento del pannicolo adiposo), da un edema ortostatico e dalla facile produzione di ecchimosi in tali sedi. <sup>(52, 53)</sup> L’uso di una sonda ecografica ad alta frequenza (20 Mhz) permette di distinguere due aspetti caratteristici del linfedema, che sono l’ispessimento e la riduzione di ecogenicità del derma; nel lipedema spessore ed ecogenicità rimangono normali e sovrapponibili quindi a quelli riscontrati in volontari sani.

L’ecografia ad alta risoluzione (utilizzante sonde da 20 MHz) permette la distinzione del linfedema dalla lipodermatosclerosi e dall’edema cardiaco. <sup>(48)</sup> Sebbene le tre condizioni siano caratterizzate da ipoecogenicità del derma, in ciascuna si riscontra una differente distribuzione: nel linfedema i fluidi sono distribuiti sia allo strato superficiale che a quello profondo del derma; nella lipodermatosclerosi l’edema è confinato al derma papillare; infine, nell’edema cardiogeno i fluidi si accumulano nella porzione profonda del derma con estensione al sottocute.



**Fig. 4.1:** Immagine ecografica di braccio con linfedema (a) e di arto controlaterale sano (b). In (c) sequenze RM T1 spin echo, in (d) RM T2 turbo spin senza soppressione del grasso; in (e) sequenza RM T2 turbo spin echo con soppressione del grasso; in (f) sequenza FLAIR (Fluid attenuated inversion recovery).

Il segnale ultrasonoro iperecogeno è circondato da bande ipoecogene; in RM è visualizzato un aspetto a “nido d’ape”.

D = derma; S= sottocute; Mu = muscolo; F= fascia. (tratto da f. A Tassenoy, J De May, F De Ridder, P van Schuerbeeck, T Vanderhasselt, J Lamote, P Lievens: postmastectomy lymphoedema: different patterns of fluid distribution visualized by ultrasound imaging compared with magnetic resonance imaging *Physiotherapy* 97 (2011) 234-243)

spessori di cute e sottocute e la valutazione della loro comprimibilità. Kim ha sfruttato entrambe le opportunità, misurando gli spessori agli arti superiori linfedematosi, e aggiungendo la determinazione della compliance pressoria, intesa come differenza di spessore ottenuta eseguendo una ecografia senza e poi con compressione massimale.<sup>(45)</sup> Le misure sono state eseguite su

13 persone, con sonda da 7,5 MHz, al braccio e all'avambraccio. All'avambraccio nella misura rilevata senza compressione, gli spessori medi di cute, sottocute e lo spessore totale epifasciale sono risultati rispettivamente di  $1,39 \pm 0,28$  mm,  $3,55 \pm 1,58$  e  $4,95 \pm 1,65$  mm; con compressione massimale, gli spessori medi erano rispettivamente di  $1,16 \pm 0,19$ ,  $2,51 \pm 1,05$  e  $3,67 \pm 1,06$  mm. Gli studi di variabilità intra-ed interoperatore hanno mostrato eccellente affidabilità (coefficienti  $> 0,75$ ) nel sottocute e nella sezione totale del tessuto epifasciale, per misure rilevate sia senza che con compressione; eccellente si è dimostrata anche la ripetibilità introperatore riferita alla cute, mentre l'affidabilità era da modesta a buona nelle modalità di misurazione restanti.

Riguardo alla compliance pressoria (cioè la differenza tra misure eseguite senza e con compressione), i valori all'avambraccio sono stati di  $0,22 \pm 0,26$ ,  $1,05 \pm 0,84$  e  $1,27 \pm 0,97$  mm rispettivamente. I coefficienti di correlazione intraoperatore sono risultati eccellenti per il sottocute e per la sezione totale; nella ripetibilità interoperatore soltanto la compliance della sezione totale si è dimostrata eccellente, mentre in tutti gli altri casi la validità era da modesta a buona.

I risultati ottenuti suggeriscono che la misura ecografica dello spessore dei tessuti epifasciali può essere riproducibile e che la compliance pressoria può riflettere la consistenza tessutale nel linfedema degli arti superiori. <sup>(45)</sup>

In conclusione l'Ecografia può utilmente completare l'esame clinico della persona con linfedema, permettendo di individuare la compartimentazione dell'edema e le modificazioni strutturali date dalla stasi cronica (sotto forma di modificazioni di ecogenicità), con anche la possibilità di ottenere dati relativi alla elasticità dei tessuti. Si può inoltre prevedere l'utilizzo nel follow up e nella valutazione delle diverse terapie. <sup>(54)</sup>

## Capitolo 5

# L'ELASTOSONOGRAFIA: PRINCIPI, APPLICAZIONI

### 5.1 DEFINIZIONE

L'elastosonografia è una metodica ecografica di recente acquisizione che consente di visualizzare le proprietà elastiche dei tessuti molli.<sup>(55)</sup>

Rappresenta un'estensione dell'ecografia tradizionale, al pari dell'Ecodoppler.<sup>(56)</sup>

Sono disponibili numerosi metodi elastosonografici tecnologicamente diversi, che tuttavia sono accomunabili perché hanno tutti come obiettivo la quantificazione o la dimostrazione qualitativa del modulo elastico del tessuto esaminato, e perché utilizzano gli ultrasuoni per misurare il microspostamento tessutale determinato con mezzi diversi.<sup>(57)</sup>

Nella diagnostica ecografica tradizionale, i segnali che formano l'immagine sono fondamentalmente dovuti alla riflessione e diffusione degli ultrasuoni in corrispondenza delle zone di differenza tra le impedenze caratteristiche.<sup>(58)</sup>

La normale indagine ecografica sfrutta meno del 15% delle informazioni contenute nel segnale RF "nativo", cioè dal segnale di ritorno dai tessuti insonati. L'elastosonografia impiega tutte le informazioni non utilizzate dal B-mode, che sono numerosissime. Queste originano da deformazioni indotte dalla mano dell'operatore (leggera compressione o vibrazione) o dalla stessa onda ultrasonora utilizzata per insonare i tessuti.<sup>(59)</sup>

La combinazione di ecografia ed elastografia dà spesso un risultato migliore rispetto alla singola applicazione dei due metodi di indagine.<sup>(56)</sup>

La sola tecnologia attualmente in grado di competere con la elastosonografia è la elastografia in Risonanza Magnetica, che non è limitata dalla presenza di osso o gas, è sensibile al movimento omnidirezionale con le

acquisizioni volumetriche ad alta velocità, può essere eseguita da personale relativamente poco esperto, dà una chiara interpretabilità dei dati. Tuttavia l'elastsonografia è più accurata e precisa ed è relativamente veloce; l'accesso alle apparecchiature è più facile per l'operatore e per il paziente e i costi complessivi per indagine sono molto più bassi. <sup>(60, 61)</sup>

## 5.2 PRINCIPI FISICI

L'elasticità di un materiale descrive la sua tendenza a riprendere la sua dimensione e forma originaria dopo essere stato sottoposto ad una forza deformante (*stress*). La risultante variazione di dimensione o forma è nota come *strain*, che viene espresso come rapporto (ad esempio, la variazione di lunghezza per unità di lunghezza). <sup>(58)</sup>

Forze applicate ai fluidi comportano una variazione della forma, non del volume: questi possiedono quindi soltanto una elasticità di volume. I solidi resistono a variazioni sia della forma che del volume: possiedono quindi elasticità di taglio (rigidità) e di volume.

Per un solido omogeneo isotropo, il rapporto di sollecitazione/deformazione è una costante, chiamata modulo di elasticità. Tre moduli (misurati in N/m<sup>2</sup> o in Pa) sono comunemente utilizzati per definire la sua elasticità:

- il modulo di Young (elasticità longitudinale),  $E = (\text{stress})/(\text{strain})$ .
- il modulo di taglio o torsione (rigidità),  $G$ .
- il modulo di massa o di volume (elasticità di volume),  $K$ .

Quando un materiale è sottoposto ad una forza deformante (*stress*), la sua lunghezza può ridursi e la sua ampiezza aumentare. Questo comportamento è definito da una costante chiamato rapporto di Poisson, che è dato da

$$\sigma = \frac{\text{estensione laterale}}{\text{contrazione longitudinale}}$$

Tre equazioni costitutive elastiche lineari definiscono le relazioni tra queste quattro costanti:

(equazione 1):

$$G = \frac{E}{[2(1 + \sigma)]}$$

(eq. 2)

$$\sigma = \frac{E}{2G} - 1$$

(eq. 3)

$$K = \frac{E}{[3(1 - 2\sigma)]}$$

Le onde meccaniche si propagano nei solidi in quattro modalità principali:

- in onde longitudinali (o compressive): le particelle si muovono nella direzione di propagazione;
- in onde trasversali (*shear wave* o onde di taglio): particelle in movimento nella direzione normale alla direzione di propagazione;
- onde di superficie;
- onde di piatto.

Soltanto le prime due sono rilevanti per la propagazione nei tessuti molli biologici. <sup>(58)</sup>

La velocità alla quale le onde meccaniche si propagano in un solido è data dalle seguenti equazioni:

(Eq. 4)

$$c_1 = \left(\frac{K}{\rho}\right)^{1/2}$$

(Eq. 5)

$$c_s = \left(\frac{G}{\rho}\right)^{1/2}$$

dove  $c_1$  è la velocità dell'onda longitudinale,  $c_s$  è la velocità delle onde di taglio ed  $\rho$  è la densità di massa di tessuto.

Poiché nei tessuti molli  $G$  è molto più piccolo di  $K$ , le onde di taglio viaggiano ad una velocità circa 1000 volte più lenta di quella delle onde longitudinali, tipicamente tra 1 e 10 m/s. A differenza delle onde longitudinali, alle frequenze ultrasonore le onde di taglio sono attenuate rapidamente nei tessuti molli. Pertanto per l'elastografia devono essere utilizzate frequenze molto basse, spesso sotto 1 kHz. Un dato importante è che i fluidi puri, non viscosi, non propagano le onde di taglio. <sup>(57)</sup>

Mentre il modulo di massa  $K$  varia per poco meno del 12% rispetto all'intero range dei tessuti molli, il modulo di taglio  $G$  varia di un fattore di più di  $10^5$ . Ciò comporta un enorme contrasto tessutale delle immagini "shear wave", quando è possibile ottenere un rapporto segnale/rumore relativamente buono. <sup>(57)</sup>

Lo strain tessutale è un surrogato della rigidità (stiffness) dei tessuti, che può essere considerata la rappresentazione di quanto può essere apprezzato palpatariamente: un basso strain tessutale corrisponde ad elevata rigidità palpatoria e viceversa. Nella più semplice delle geometrie, sia lo stress che lo strain sono noti, e il modulo elastico è dato dal loro rapporto.

Per i solidi isotropi omogenei sottoposti ad un incremento della tensione si applica la legge di Hooke: la deformazione è direttamente proporzionale alla forza applicata, fino all'eventuale rottura. <sup>(58)</sup>

In situazioni anatomiche e patologiche reali la stima del modulo di taglio è molto più complicato. Alcuni materiali sottoposti a deformazione presentano proprietà sia elastiche che viscosi, con una relazione tra azione ed effetto che è tempo-dipendente. <sup>(58)</sup> La componente viscosa agisce come un ammortizzatore che ritarda la risposta stress-strain, senza pregiudicarne il valore asintotico. Altri materiali dimostrano un comportamento poroelastico. E' caratteristico delle strutture porose, in cui una sostanza solida è permeata da pori interconnessi, riempiti da fluido. In questi casi la curva stress-strain dipende da un comportamento elastico della matrice, e dalla redistribuzione dei fluidi nel corso del tempo, per adattarsi alla deformazione. <sup>(58)</sup>

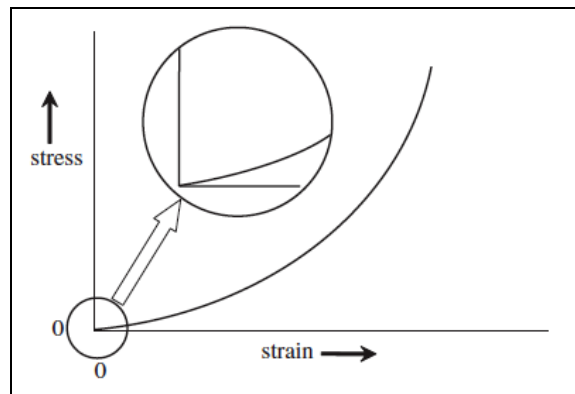
### **5.3 LE PROPRIETA' ELASTICHE DEI TESSUTI BIOLOGICI**

Ci sono cinque tipi principali di tessuti molli:

- tessuto epiteliale, che si compone di cellule concentrate strettamente insieme per formare fogli continui, che servono come rivestimento;
- tessuto connettivo, di solito contenente fibre collageniche, che sostiene e aggiunge struttura al corpo;



- tessuto parenchimale, che è il tessuto funzionale degli organi;
- tessuto muscolare, che ha la capacità di contrarsi in risposta a segnali elettrici;
- tessuto nervoso, che ha la capacità di generare e condurre i segnali elettrici. <sup>(58)</sup>



**Fig. 5.1:** Relazione stress-strain ideale per i tessuti molli.

La Figura 5.1 mostra la relazione tipica tra stress e deformazione nei tessuti molli. All'inizio dell'applicazione dello stress, la deformazione aumenta rapidamente fino a completa mobilitazione dei fluidi; successivamente il rapporto tra stress e strain (= modulo di Young) può essere considerato lineare per piccole variazioni, ma con un progressivo incremento del modulo elastico per ulteriori incrementi della forza deformante. <sup>(58)</sup>

Le caratteristiche di comportamento allo stress sono soggette a modificazioni che dipendono dalla natura del tessuto: viscoelastica, poroelastica, anisotropica o contrattile, o qualsiasi combinazione tra queste. Dipende inoltre dalla condizione di normalità o di alterazione (raccolte fluide, margini di organi o tumori, cicatrici<sup>(57)</sup>) e, ancora, dall'età del tessuto, dalla sua temperatura, e dal fatto che sia vivo, in vitro o fissato. <sup>(58)</sup>

Un aspetto importante nell'ottenimento di valori utili del modulo di Young nelle parti molli è che il tessuto richiede un leggero precarico statico, corrispondente all'applicazione di un piccolo stress, in modo da eliminare l'effetto della componente viscosa. <sup>(58)</sup>

Tralasciando alcuni "tessuti molli" (cristallino, cartilagine, cute, tendine), ma includendo tutti gli altri, il valore di  $c_l$  varia tra 1412 m/s nel tessuto adiposo e 1629 m/s nel muscolo; i valori corrispondenti per  $\rho$  sono 916 e 1060 kg/m<sup>3</sup>, rispettivamente.

Sostituendo questi valori per  $c_l$  e  $\rho$  in (Eq. 4) otteniamo l'indicazione del valore di K; pertanto il valore di K per i tessuti molli deve variare circa tra 1800 MPa nel tessuto adiposo e 2800 MPa nel muscolo.

La letteratura riporta abitualmente valori relativi al modulo di Young, piuttosto che quelli di modulo di taglio.<sup>(58)</sup>

Per tessuti molli, tuttavia, il rapporto di Poisson è di solito tra 0,490 e 0,499, poiché il tessuto è quasi incompressibile. Pertanto, da (Eq.2) si ottiene

$$E \approx 3G.$$

È il valore di G che è richiesto per il calcolo della velocità delle onde di taglio da (Eq. 5). Per convenienza viene usata l'equazione  $E \approx 3G$  ogni qualvolta è necessaria la conversione tra il valore di E e quello di G, e viceversa.<sup>(58)</sup>

## 5.4 TECNICHE ELASTOSONOGRAFICHE

Vi sono differenti metodi elastosonografici, che sono però accomunabili per il fatto di:

- individuare il modulo elastico del tessuto esaminato, dimostrando il contrasto o misurandolo quantitativamente
- utilizzare una misurazione ultrasonora dello spostamento tessutale tempo-dipendente.<sup>(57)</sup>

Le caratteristiche di deformazione dei tessuti molli favoriscono l'uso degli ultrasuoni nella elastografia per diversi motivi:

- piccole chiazze, onnipresenti nelle immagini ultrasonore dei tessuti molli, derivano da variazioni diffusamente distribuite di K e  $\rho$  e forniscono immagini che seguono le deformazioni tessutali;
- la relativamente bassa attenuazione degli ultrasuoni consente la formazione di immagini ecografiche in alta frequenza (e quindi ad alta risoluzione), con possibilità di rilevare piccoli spostamenti tessutali e di distinguere differenze

nel movimento degli elementi vicini;

► la velocità relativamente alta degli ultrasuoni consente l'acquisizione degli echi con una rapidità sufficiente ad osservare spostamenti tissutali determinati dagli stress.<sup>(57)</sup>

La prima fase dell'elastografia comporta l'eccitazione dei tessuti. Questa può essere effettuata con mezzi meccanici diretti o con la forza radiante ultrasonora.

L'eccitazione determina una dislocazione tissutale di tipo (quasi-) statico oppure dinamico; nel secondo caso vi è la generazione di onde di taglio.

La detezione degli effetti dell'eccitazione può avvenire mediante effetto ultrasonoro Doppler, con metodi "ultrasonic pulse-echo" o per emissione acustica. Le informazioni risultanti possono essere visualizzate come immagini, direttamente delle distribuzioni spaziali degli strain o delle onde di taglio o, ancora, dei moduli elastici o della rigidità dei tessuti. Solitamente gli elastogrammi (dello strain, del modulo elastico o della stiffness) possono essere fusi con le corrispondenti scansioni in B-mode, facilitando così l'identificazione delle strutture anatomiche a cui si riferiscono.<sup>(58)</sup>

Di seguito sono descritte le diverse tecniche elastosonografiche.

#### *Vibrazione della superficie a bassa frequenza*

Visualizzazione della sonoelasticità è il termine coniato per descrivere il metodo elastosonografico in cui un vibratore meccanico a bassa frequenza (tipicamente 10-1000 Hz) è applicato alla superficie cutanea e il movimento indotto nei tessuti sottostanti viene rilevato da un sistema Doppler pulsato.<sup>(62)</sup>

Poiché i tessuti rigidi rispondono differentlye dai tessuti molli, le regioni ad alta rigidità possono essere visualizzate in contrasto con quelle a bassa rigidità. Un problema derivante da questa tecnica è che, sebbene le lesioni rigide non siano evidenziati nell'immagine, non lo sono neanche le regioni da cui non viene rilevato alcun segnale: questo può portare ad errori nella diagnosi clinica.<sup>(59)</sup>

### *Dislocazione “a scalino” (quasi-statica) della superficie*

In questo approccio, viene applicata una forza (di solito alla superficie cutanea) per un tempo sufficientemente lungo perché gli strain diventino sufficientemente stabilizzati, con una misurazione ultrasonora della dislocazione tessutale risultante, sia longitudinalmente (compressione), sia lateralmente (forze di taglio).

La forza può essere generata da un attuatore meccanico e può essere applicato come spostamento unico o in una sequenza di compressioni incrementali, con misure dello spostamento compiute ad ogni compressione.<sup>(59)</sup>

### *Spostamento “a mano libera” della superficie (quasi-statico)*

La forza esercitata dalla sonda a contatto con la cute varia come conseguenza naturale dell'azione della mano libera che esegue l'esame B-mode: ne deriva una variazione negli spostamenti tissutali, che può essere utilizzata per una visualizzazione quasi-statica dell'elasticità.

La sensibilità dello strain e il rapporto contrasto-rumore degli elastogrammi eseguiti a mano libera sono risultati comparabili a quelli prodotti dalla sonda a spostamento indotto meccanicamente, anche se il rapporto segnale/rumore e il range dinamico risultano leggermente peggiori.

La visualizzazione in tempo reale, l'una accanto all'altra, dell'immagine in B-mode e di quella relativa agli strain facilita l'identificazione delle caratteristiche anatomiche in relazione alle loro proprietà elastiche. Tuttavia, nella maggior parte degli scanner disponibili in commercio l'immagine strain è sovrapposta a quella B-mode, a costituire una “mappa colore” in cui colori diversi corrispondono a stiffness diverse, e la luminosità è determinata in parte dall'ampiezza del segnale.<sup>(63)</sup>

Questo semplice approccio richiede un operatore esperto perché possano essere ottenute immagini di buona qualità.

Un approccio alternativo è rappresentato dal metodo a mano libera assistita AFUSON. In questo, il dispositivo AFUSON viene tenuto a contatto

fisso con la pelle del paziente da parte dell'operatore e la sonda ad ultrasuoni, il cui corpo è alloggiato all'interno del dispositivo, viene spostata assialmente meccanicamente, in una sequenza di incrementi di 0,25 mm per una distanza tipicamente di 2-5 mm. Rispetto all'acquisizione completamente a mano libera, questo sistema semi-automatico riduce le decorrelazioni di movimento “out-of-plane” del 50% e il movimento laterale del 30%, e aumenta la ripetibilità del 50%.

### *Spostamento fisiologico*

Questa tecnica nasce dall'idea di utilizzare la pulsazione pressoria arteriosa per stimare l'elasticità della parete del vaso. Vi sono diverse problematiche relative a questo tipo di approccio, tuttavia si riconosce un ruolo potenziale nella misura non invasiva ed in tempo reale dell'elasticità vasale.<sup>(59)</sup>

### *Spostamento con forza radiante*

L'idea di usare la forza radiante ultrasonica focalizzata per spostare i tessuti e quindi ottenere informazioni sulla stiffness è stata pubblicata la prima volta nel 1990.<sup>(64)</sup>

Il tessuto è stato spostato dalla forza radiante; allo spegnimento dell'irradiazione ultrasonora, con un sistema ultrasonico pulse-echo è stato osservato il riposizionamento del tessuto, il cui tasso è risultato empiricamente correlato alla stiffness tessutale.

Questo tipo di approccio è alla base dello sviluppo di alcune tecniche:

- l'Acoustic Radiation Force Impulse, nelle varianti imaging e quantification;
- l'induzione con forza radiante di onde di taglio.

La prima sarà trattata in capitolo dedicato. La seconda comporta l'utilizzo di un fascio ultrasonoro altamente focalizzato. Impulsi di 4MHz della durata di 100 microsecondi sono applicati per formare un fascio focalizzato su 5 punti posti lungo la zona insonata, con la produzione di forze di taglio che combinano la

loro azione, formando un fronte d'onda simile a quello di un velivolo che rompe la barriera del suono. Si può quindi pensare che la fonte delle onde di taglio viaggi lungo il fascio di insonazione a velocità supersonica. Il trasduttore riceve impulsi simultanei che permettono di formare immagini bidimensionali del fronte d'onda; ne deriva la possibilità di stimare il modulo di Young, ottenendo mappe sovrapposte all'immagine B-mode. Per la modalità di ottenimento dell'immagine, il metodo viene denominato *visualizzazione supersonica di taglio*.<sup>(65)</sup>

L'ulteriore approfondimento delle possibilità di questa tecnica ha permesso di ottenere mappe viscoelastiche, che danno maggiori informazioni rispetto a quelle basate sul modulo di Young.<sup>(66)</sup>

### *Vibroacoustografia*

Rappresenta una variante dell'uso della forza di radiazione ultrasonica. Il fuoco di due fasci ultrasonori viene fatto coincidere in un punto del tessuto da esaminare. La frequenza dei due fasci ha una lieve differenza (tipicamente 25 Khz); la regione insonata quindi è sottoposta ad una forza radiante a frequenza fluttuante.

Soltanto la zona tessutale sottoposta alla combinazione dei due fasci dimostra una fluttuazione, non quelle insonate da ciascun fascio ultrasonoro. L'ampiezza della fluttuazione tessutale dipende dalla stiffness locale del tessuto. L'ampiezza delle emissioni acustiche dal tessuto permette di ricostruire un'immagine con la distribuzione spaziale della stiffness tessutale.

## Capitolo 6

# **LO STUDIO ELASTOSONOGRAFICO CON LA TECNICA ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse)**

L'Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) è una tecnica elastosonografica il cui sviluppo è iniziato poco più di dieci anni fa. Nel 1998 è stato riportato che in un tessuto, onde acustiche trasversali (*shear wave*, onde di taglio) possono essere indotte da un fascio focalizzato di ultrasuoni, e che queste onde di taglio potrebbero essere rilevate otticamente o mediante risonanza magnetica e mostrate come immagine, con possibilità di stimare la loro velocità e, quindi, l'elasticità del tessuto.<sup>(67)</sup>

È stato pertanto ipotizzato che le onde di taglio potrebbero essere visualizzate anche con gli ultrasuoni. Successivamente è stata confermata la possibilità di misurare la velocità delle onde trasversali punto per punto, rilevando la traslazione assiale causata dal fascio ultrasonoro focalizzato, con possibilità di ricostruire una immagine bidimensionale del modulo di Young.<sup>(68)</sup>

E' stata pertanto sviluppata una strumentazione per la stima dello spostamento tempo-picco laterale, per la misura della velocità delle onde di taglio, in alternativa all'uso di algoritmi basati sulle correlazioni, ed è stata dimostrata la possibilità di utilizzare il modulo di Young nel fegato di giovani volontari.<sup>(69)</sup>

La visualizzazione mediante Acoustic Radiation Force Impulse è stata descritta nel 2002, quale possibilità di utilizzare forze acustiche di breve durata (spinte impulsive), per causare spostamenti localizzati nei tessuti profondi; il tracciamento di questi spostamenti tramite una cross-correlazione ultrasonora, ha permesso la mappatura, punto per punto, delle proprietà viscoelastiche del tessuto.

Con uno scanner diagnostico ad ultrasuoni modificato ed un trasduttore lineare, è stato utilizzato un fascio ultrasonoro concentrato, per applicare spinte impulsive ad un volume di circa  $2 \text{ mm}^3$  per un massimo di 1 ms per impulso, con uno spostamento risultante di circa  $10 \text{ }\mu\text{m}$ . Ogni linea di tracciamento è stata divisa in una serie di brevi regioni di ricerca e lo spostamento assiale è stato stimato utilizzando la posizione del picco della funzione di cross-correlazione tra un kernel della prima linea di tracciamento e la posizione corrispondente della seconda linea di tracciamento. Utilizzando questo sistema, sono state prodotte le prime immagini ARFI bidimensionali della mammella, registrate insieme con immagini B-mode. <sup>(70)</sup>

Le immagini ARFI rappresentano la distribuzione spaziale della rigidità dei tessuti. A seguito dell'applicazione di spinte impulsive, al punto focale il tessuto si riposiziona, con propagazione di onde di taglio. <sup>(71)</sup>

Misurando la velocità di queste onde di taglio, il valore locale del modulo di taglio può essere stimato dall'equazione  $c_s = (G/\rho)^{1/2}$ ; utilizzando questo metodo in un "phantom", le stime di imaging ARFI differivano da misurazioni dirette del modulo elastico di non più del 20 per cento circa.

Poiché il processo di acquisizione dei dati in genere richiede 1-3 ms per ogni coppia di linee di tracciamento, il movimento fisiologico può degradare la qualità delle immagini in vivo. Questo effetto può essere minimizzato utilizzando fasci di monitoraggio con frequenze ultrasoniche inferiori e adottando strategie di scansione che tengano conto di questo movimento. <sup>(72)</sup>

Immagini ARFI sono state confrontate con quelle ottenute con elastografia a dislocamento quasi-statico di superficie: sono risultate più omogenee sia nelle porzioni circostanti che all'interno di inclusioni, con un migliore contrasto, in particolare per inclusioni morbide. <sup>(73)</sup>

Riguardo alla sicurezza dell'elastosonografia ARFI, è stato stimato che l'aumento della temperatura di picco, in un protocollo tipico di valutazione, è di circa  $0,14 \text{ }^\circ\text{C}$  per ogni impulso di spinta. <sup>(70)</sup>

Supponendo accettabile un aumento della temperatura fino a  $1 \text{ }^\circ\text{C}$  e considerando la distribuzione spaziale dei fasci di spinta durante la scansione bidimensionale, si è concluso che questo regime non comporti per il paziente



un rischio superiore a quello di una tradizionale rappresentazione in B-mode.

Ulteriori analisi hanno confermato la sicurezza del metodo. <sup>(74)</sup>

L'utilizzo dell'ARFI per la generazione e la misurazione di onde di taglio avviene secondo due diverse modalità:

- misurando lo spostamento del tessuto sollecitato dal fascio ultrasonoro: porta ad una rappresentazione qualitativa, con visualizzazione della porzione tessutale compresa in una regione di interesse, selezionata dall'immagine ecografica B-mode; tale tecnica viene denominata *acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging*;
- misurando la velocità delle onde di taglio: porta ad un dato quantitativo, espresso in m/s, relativo alla porzione tessutale compresa in una regione di interesse, selezionata dall'immagine ecografica B-mode; tale tecnica viene denominata *ARFI quantification*.

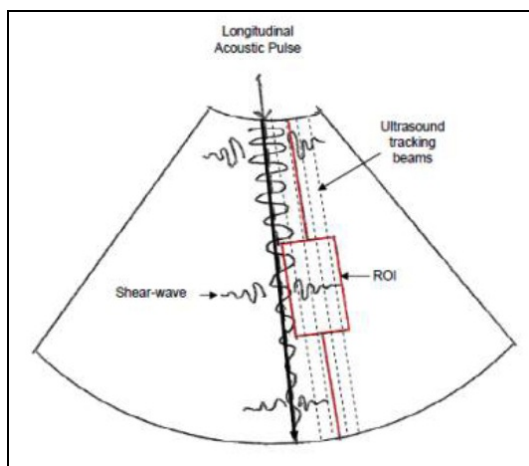
La tecnologia ARFI quantification è stata sviluppata ed introdotta dalla Siemens nel suo apparecchio ecografico Acuson S2000 (ARFI Virtual Touch). L'elasticità tessutale viene misurata a partire da un'immagine in B-mode: a seguito del settaggio dell'apparecchio in modalità ARFI, si posiziona la ROI (region of interest, delle dimensioni di 6 mm di lunghezza e 10 mm di larghezza) nell'area in cui si desidera eseguire la misurazione, e si esegue quindi la stima, premendo un pulsante dedicato.

Quest'ultima operazione determina l'eccitazione della ROI da parte di una forza impulsiva che genera onde di taglio entro il tessuto, la cui velocità è proporzionale alla radice quadrata dell'elasticità dei tessuti.

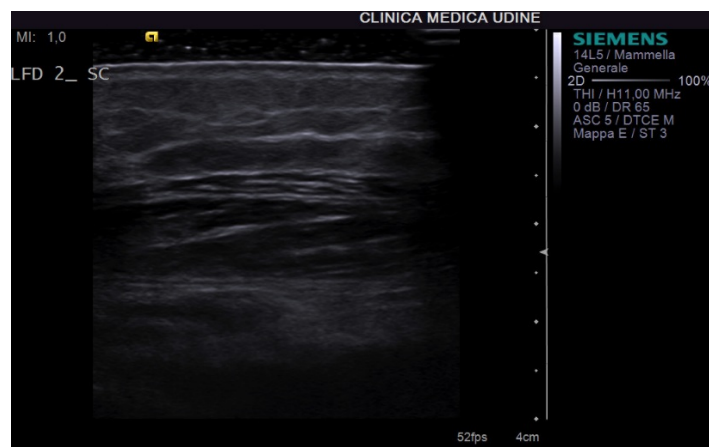
Il risultato è la rilevazione della stiffness della zona esaminata, riportata come velocità (metri per secondo).



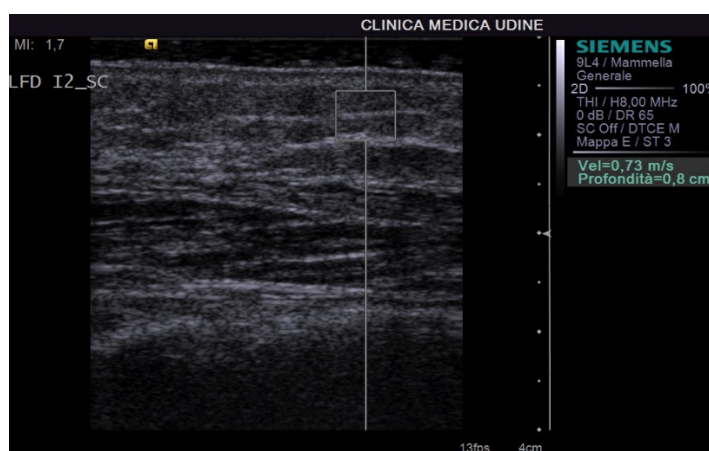
**Fig. 6.1:** L'apparecchio Acuson S2000, che integra la tecnologia ARFI-Virtual Touch™



**Fig. 6.2:** LA REGIONE DI INTERESSE (ROI) E I FENOMENI MECCANICI PRODOTTI DAL FASCIO ULTRASONORO EMESSE. L'eccitazione meccanica del tessuto è determinata da impulsi acustici di breve durata. Lo spostamento prodotto genera onde di taglio che si allontanano dalla regione di eccitazione. Viene stimato il massimo spostamento per molte tracce ultrasonore poste lateralmente al fascio che ha eccitato il tessuto. La misura del tempo di spostamento massimale ai tessuti posti lateralmente al fascio eccitante permette il calcolo della velocità delle onde di taglio.



**Fig. 6.3:** Immagine ecografica dei tessuti linfedematosi



**Fig. 6.4:** Stessa immagine in visualizzazione ARFI, con misura della velocità delle onde di taglio, eseguita a profondità intermedia dei tessuti epifasciali

La letteratura riporta ormai numerosi dati sull'utilità dell'ARFI-Virtual Touch in valutazioni cliniche di diverso tipo, ma soprattutto mirate a patologie epatiche, della mammella e della tiroide.

Nello studio delle patologie che modificano la consistenza epatica si è dimostrata l'utilità dell'approccio elastosonografico, che potrebbe sostituire in futuro quello che è tuttora il golden standard, cioè l'agobiopsia. Questa infatti è invasiva ed è associata a disagio del paziente e, raramente, a gravi complicazioni. <sup>(75)</sup>

Inoltre, la dimensione del campione biptico, che è lungo 1-3 cm con 1,2-2 mm di diametro, rappresenta solo 1/50000 del totale della massa del fegato, <sup>(75)</sup> e la valutazione istopatologica è essenzialmente personale, anche con l'uso di un sistema semiquantitativo. <sup>(76)</sup>

Pertanto, la precisione degli studi di biopsia epatica è limitata da errori di campionamento e dalla variabilità intra- e interoperatore.<sup>(77)</sup>

E' tuttavia importante evidenziare che, a livello epatico, infiammazione, congestione e steatosi alterano i valori della stiffness misurata con metodica ARFI.<sup>(78, 79, 80)</sup>

Tomita e Coll. hanno valutato la stiffness epatica con 73 misurazioni eseguite su 65 persone, che avevano subito un trapianto di fegato in età pediatrica, confrontando i dati con quelli della agobiopsia. Cinquantanove di queste misure sono state comparate con riscontri istopatologici. Si è dimostrato che valori ottimali di cutoff, che esprimano l'instaurazione di fibrosi epatica, sono di 1,30 e 1,39 m/s rispettivamente per posizionamento della sonda sulla linea mediana o a livello intercostale. Le conclusioni dello studio sono che le misure ARFI della stiffness epatica dimostrano buona accuratezza nella diagnosi di fibrosi di fegato dopo trapianto eseguito in età pediatrica.<sup>(81)</sup>

Bota e Coll. hanno eseguito una metanalisi, comparando la performance diagnostica di ARFI in rapporto alla "transient elastography" (TE) e alla biopsia epatica. La TE viene eseguita col Fibroscan (Echosens, Francia), che presenta una sonda ultrasonora da 5 MHz montata sull'asse di un vibratore; la sonda genera una vibrazione assolutamente indolore (frequenza di 50 Hz e ampiezza di 2 mm) che produce a livello epatico onde di taglio; la loro velocità rilevata dall'apparecchio ed espressa in KiloPascal (kPa), è in rapporto diretto con la elasticità del tessuto esaminato. Sono stati individuati 13 studi, per un totale di 1163 soggetti esaminati. L'impossibilità di ottenere dati affidabili è risultata tre volte superiore per la TE rispetto all'ARFI. La sensibilità diagnostica per un grado significativo di fibrosi ( $F \geq 2$ , nella classificazione della fibrosi di Metavir) ha dimostrato per ARFI una sensibilità pari a 0,74 e una specificità pari a 0,83, mentre per TE sono state rispettivamente pari a 0,78 e 0,84. Per la diagnosi di cirrosi con ARFI la sensibilità è stata pari a 0,87 e la specificità pari a 0,87, mentre per TE i valori sono stati di 0,89 e 0,87. Quindi l'"odds ratio" diagnostico non differiva tra le due tecniche elastosonografiche, dimostrando che l'elastosonografia ARFI è un buon metodo per la diagnosi di fibrosi epatica, con una più alta affidabilità nella misurazione (data anche dalla possibilità di visualizzare contestualmente in B-mode il tessuto da esaminare) e

un simile valore predittivo rispetto alla TE. <sup>(82)</sup>

In un'altra metanalisi Nierhoff e Coll. hanno selezionato 36 studi, per un totale di 3951 pazienti esaminati, dimostrando una accuratezza diagnostica di ARFI buona per gli stadi F2 e F3 di fibrosi, ed eccellente per l'F4. <sup>(83)</sup>

Bruno e Coll. hanno esaminato l'utilità dell'ARFI nella valutazione del rene normale e patologico in età pediatrica, studiando 22 soggetti, di età tra 9 e 16 anni, con reflusso vescicoureterale primario o secondario. Comparando i valori del rene patologico con quelli del controlaterale sano e con quelli di 16 soggetti sani (gruppo controllo), si è osservata una differenza significativa nei valori di stiffness, pari rispettivamente a  $5,70 \pm 1,71$  m/s nel patologico,  $4,09 \pm 0,97$  nel controlaterale e  $3,13 \pm 0,09$  in quelli del gruppo di controllo. In caso di reflusso secondario i valori erano significativamente maggiori che nel reflusso primario (rispettivamente  $6,59 \pm 1,45$  e  $5,35 \pm 1,72$ ). <sup>(84)</sup>

Hou e Coll. hanno valutato l'applicazione dell'ARFI all'esame delle lesioni benigne e maligne della tiroide.

I valori misurati per tessuto sano, per lesioni benigne e per lesioni maligne sono stati rispettivamente  $1,69 \pm 0,41$  m/s,  $2,03 \pm 0,42$  m/s e  $3,10 \pm 1,08$  m/s. Le differenze sono risultate statisticamente significative. Con un valore cutoff di 2,42 m/s, sensibilità, specificità, accuratezza, valore predittivo positivo e valore predittivo negativo sono risultati rispettivamente 80,00%, 89,23%, 87,05%, 69,56% e 93,54%. <sup>(85)</sup>

## Capitolo 7

### **RICERCA SPERIMENTALE:**

#### **La elastosonografia con tecnica ARFI**

#### **(Acoustic Radiation Force Impulse)**

#### **per lo studio delle modificazioni dei tessuti epifasciali**

#### **nel linfedema dell'arto superiore**

### **7.1 INTRODUZIONE**

Il linfedema è una malattia cronica, ingravescente, caratterizzata dall'accumulo di fluidi ricchi di proteine negli spazi interstiziali della cute e del sottocute, a causa di un'insufficienza meccanica del sistema vascolare linfatico. <sup>(85, 86)</sup> Sebbene abitualmente non ponga a rischio la sopravvivenza, ha importanti conseguenze per le persone affette, poiché espone a rischio d'infezioni, causa limitazioni funzionali e comporta anche problemi sul piano psicologico, con modificazione dell'immagine corporea, riduzione dell'autostima, disturbi affettivi e paura. <sup>(47)</sup> Se non curato, dimostra un progressivo peggioramento. <sup>(21)</sup>

In uno studio di Bar (2010), il linfedema moderato (differenza di circonferenza < 2 cm) era associato ad un rischio di aggravamento nel 79% dei casi ad 1 anno, 66% dei casi a 3 anni e 52% dei casi a 5 anni. <sup>(87)</sup>

Il linfedema dell'arto superiore consegue abitualmente ad interventi di linfadenectomia ascellare, eseguiti soprattutto per chirurgia radicale del cancro del seno.

La prevalenza del linfedema dopo chirurgia mammaria varia dal 10 al 50%, a seconda degli autori <sup>(45)</sup>; l'incidenza dopo asportazione del solo linfonodo sentinella è del 3%. <sup>(88)</sup>

La stasi cronica di fluidi ricchi di proteine causa una flogosi che, attraverso l'azione di diverse citochine e chemochine, porta da un aumento dei

fibroblasti attivati, ad una aumentata produzione di collagene e alla lisi delle fibre elastiche. Ne consegue un'evoluzione verso la fibrosclerosi tessutale. Fenomeni associati sono una proliferazione di cellule lipoidi e una neoangiogenesi: ciò determina un incremento del tessuto adiposo e può scatenare (anche per fenomeni di depressione immunitaria locale) <sup>(89)</sup> lo sviluppo di angiosarcomi. <sup>(22, 34)</sup>

L'apprezzamento delle trasformazioni tessutali può essere ispettivo e palpatorio, con riscontro delle tipiche alterazioni cutanee, varianti dall'ipercheratosi fino alla pachidermia (spesso accompagnata dalla verrucosi e dalla papillomatosi linfostatica) e con modifiche nella cedevolezza dei tegumenti alla pressione.

Metodiche strumentali che permettono di registrare variazioni della consistenza dei tessuti linfedematosi sono la tonometria e l'ecografia.

La prima dà una misura quantitativa della consistenza e si correla bene con la sensazione soggettiva <sup>(90)</sup>; può inoltre permettere di seguire il comportamento dei tessuti a seguito dei trattamenti conservativi. <sup>(91)</sup> Tuttavia lo strumento è di difficile reperimento, la misura effettuata si riferisce agli strati tessutali più superficiali ed è cruciale il suo posizionamento.

L'ecografia permette di studiare diversi aspetti del linfedema: presenza di raccolte fluide, differenze di ecogenicità rispetto al segmento sano, modifiche degli spessori del derma e del sottocute, comprimibilità dei tessuti epifasciali. Quest'ultima valutazione permette di ottenere un risultato numerico che è però riferito globalmente alla porzione esaminata; diventa inoltre difficile derivare un valore di consistenza, sia in assoluto, che in relazione alla cedevolezza dei tegumenti controlaterali, sani.

E' relativamente recente lo sviluppo di una particolare tecnica ecografica, rappresentata dall'elastosonografia. Questa permette, con software dedicato e integrato nel normale apparecchio per ecodiagnostica, di distinguere, all'interno del tessuto esaminato, aree con diversa deformabilità, indotta da piccole pressioni dell'operatore o date da movimenti fisiologici dell'organismo, o ancora, dalla stessa onda ultrasonora.

La risposta può essere qualitativa (mappe con colori diversi a seconda della elasticità tessutale) o quantitativa, con espressione di valori in metri al secondo o KPascal.

Gli studi elastosonografici, inizialmente applicati alla diagnosi delle lesioni neoplastiche epatiche, mammarie e tiroidee, si stanno allargando al sistema muscolo scheletrico, e sono presenti in letteratura alcune esperienze (case series), applicate allo studio del linfedema, dalle quali si evince l'utilità di questa metodica nella caratterizzazione tissutale.<sup>(92, 93)</sup>

Tra le diverse modalità di applicazione dell'elastosonografia vi è la tecnica ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse), che può essere utilizzata per valutare la dislocazione tessutale, fornendo dati di tipo qualitativo (mappe colorimetriche) o può fornire la velocità delle onde di taglio, offrendo quindi un dato quantitativo, espresso in metri per secondo. Il secondo tipo di tecnologia è stato utilizzato per l'esecuzione di diversi studi, che hanno dimostrato la sua utilità nella determinazione della fibrosi epatica e renale, in particolare dopo trapianto d'organo.

Obiettivo della ricerca è la determinazione della possibilità di utilizzare l'Acoustic Radiation Force Impulse per caratterizzare le trasformazioni del tessuto interessato da linfedema cronico, in particolare con l'intento di verificare se i tessuti interessati da linfedema cronico vanno incontro a progressiva riduzione dell'elasticità, come attestato da gran parte della letteratura linfologica.

Per ottenere un dato di riferimento e comparazione, lo studio si è indirizzato anche alla valutazione dell'elasticità tessutale con ecografia tradizionale, confrontando lo spessore dei tessuti epifasciali senza e con compressione.



## 7.2 MATERIALI E METODI

### *Casistica*

L'indagine è stata eseguita su 41 persone, sottoposte a dissezione ascellare per neoplasia della ghiandola mammaria, che hanno sviluppato linfedema secondario monolaterale.

Sono state reclutate persone con linfedema al 2° e 3° stadio, presente da almeno due anni, e con età maggiore di 18 anni.

Criteri di esclusione sono stati:

- esclusiva localizzazione distale del linfedema (polso e mano);
- bilateralità del linfedema;
- patologia infiammatoria in atto o conclusa da meno di un mese;
- trattamento conservativo in corso o concluso da meno di due settimane;
- linfedema secondariamente maligno;
- patologia dermatologica di altra origine degli arti superiori;
- patologia internistica causa di anasarca (sindrome nefrosica, cardiopatia edemigena severa, cirrosi).

### *Modalità dello studio*

Lo studio è stato di tipo “trasversale”. Il reclutamento è avvenuto con invito telefonico o nel corso di visita fisiatrica, ed eseguito nei confronti di persone seguite dall'Ambulatorio Linfologico dell'Associazione Lotta al Linfedema, con sede a Udine.

Nella parte iniziale della valutazione è stato ottenuto il consenso informato. Sono stati poi registrati alcuni dati (anagrafici, relativi al tumore e al linfedema) e sono stati quindi misurati:

- peso e altezza;
- entità del gonfiore, mediante rilevazione delle circonferenze e delle lunghezze segmentarie, in corrispondenza dei punti utilizzati per la misurazione degli indumenti elastocompressivi su misura; sono

state successivamente utilizzate formule matematiche per calcolare il volume dei due segmenti e l'entità in ml del gonfiore;

- qualità dei tegumenti, con rilievo di consistenza e imprimibilità della fovea ad entrambi i lati; per la fovea è stato stabilito un sistema di graduazione da 0 (fovea non imprimibile) a 3 (netta impronta digitale, con evidente affondamento del dito; al grado 1 lieve e al 2 modesta imprimibilità dell'impronta).

Sono stati quindi individuati e segnati, con matita dermografica, i punti di repere da utilizzare nelle successive misurazioni: all'avambraccio dx e sn, all'unione tra 1° e 2° terzo, alla porzione dorsolaterale.

Sono state quindi eseguite, sui punti di repere:

- misurazione dello spessore dei tessuti epifasciali, senza appoggiare la sonda alla cute e utilizzando una abbondante quantità di gel come spaziatore;
- misurazione ARFI senza compressione, appoggiando la sonda alla cute, con misurazioni eseguite, ove possibile, a profondità diverse, in funzione delle dimensioni del box corrispondente alla zona di interesse (ROI = Region of Interest)
- misurazione ARFI con compressione massimale
- misurazione ecografica dello spessore, con compressione massimale.

La successione delle misurazioni è stata decisa in modo che nessuna rilevazione potesse interferire con le altre. Per ogni punto esaminato sono state eseguite tre misurazioni.

Le persone esaminate sono state poste in posizione supina, con arti superiori distesi e rilassati; ogni misurazione ecografica è stata eseguita a persona immobile, con respiro trattenuto, al termine di una espirazione.

La durata della visita per ciascuna paziente è stata di circa 40 minuti.

### *Materiali utilizzati*

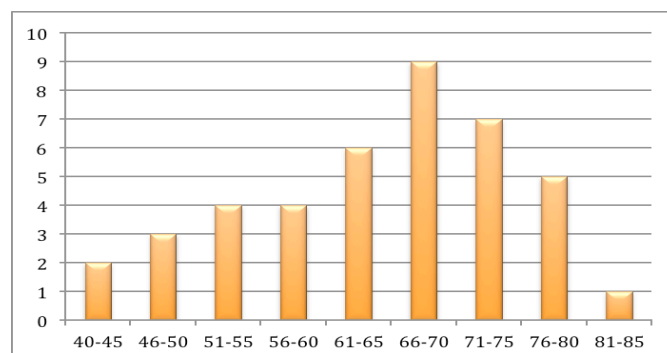
Le rilevazioni ecografiche sono avvenute utilizzando l'apparecchio Acuson S 2000, dotato di applicazione Acoustic Radiation Force Impulse Quantification – “Virtual Touch <sup>TM</sup>”, per la quantificazione tessutale. Sono state utilizzate una sonda lineare da 14,5 MHz per le valutazioni degli spessori e una sonda lineare da 9 MHz per le misurazioni ARFI. I dati ottenuti sono stati di tipo quantitativo, espressi in metri al secondo.

### *Analisi statistica*

L'analisi di tipo descrittivo e' stata realizzata con il programma Excel del pacchetto applicativo Microsoft Office 2007; la parte inferenziale con software statistico R.

## **7.3 RISULTATI**

La casistica è stata composta da 41 soggetti, di cui 38 femmine e 3 maschi. L'età media è di 63 anni (DS:  $\pm 10,4$  anni; mediana = 65 anni, con range 42-83 anni).



**Grafico 7.1:** Distribuzione dell'età all'interno del campione esaminato

In 28 casi erano riferiti episodi flogistici (dermatolinfangioadenite o erisipela), in numero variabile tra 1 per tutta la durata del linfedema, a 2

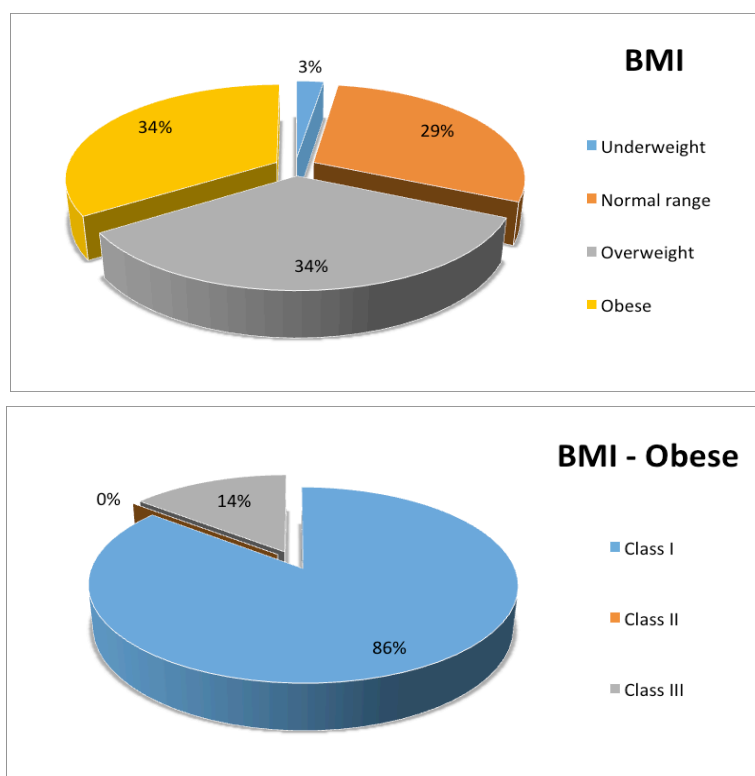
all'anno. In 34 casi viene eseguito periodico trattamento combinato con drenaggio linfatico manuale e bendaggio elastocompressivo; 35 persone utilizzano l'indumento elastocompressivo, 25 ne fanno uso regolare.

Il rilievo palpatorio della consistenza ha rilevato nell'arto linfedematoso tegumenti morbidi in 27 casi e duro-elastici in 14; in 11 casi la fovea non era imprimibile, in 19 era lieve (grado 1), in 9 era modesta (grado 2) e in 2 era ben evidente, con affondamento importante del dito (grado 3). Al lato sano si è riscontrata soltanto una volta una consistenza duro-elastica, mentre negli altri casi era morbida; inoltre in 6 casi vi era una lieve imprimibilità della fovea (grado 1), assente invece in tutti gli altri.

I dati relativi a BMI, durata del gonfiore ed entità del gonfiore (volume dell'arto linfedematoso - volume dell'arto sano) sono riportati in tabella 1. La durata media del linfedema era di 6 anni (DS:  $\pm 4$  anni; mediana 5 anni, con range 2-19 anni).

ID	ANAMNESI		
	BMI	Durata (mesi)	Volume
1	30,5	216	496,34
2	27,6	24	608,43
3	24,2	48	451,56
4	27,4	36	290,33
5	28,5	144	877,72
6	31,6	60	343,11
7	29,0	132	184,72
8	26,2	72	1002,20
9	41,2	72	845,73
10	25,8	60	191,56
11	23,1	108	1013,69
12	32,4	60	775,79
13	25,1	96	310,61
14	29,0	96	36,11
15	23,6	108	311,82
16	41,7	48	1938,59
17	29,0	84	252,65
18	26,6	52	970,00
19	18,3	48	417,74
20	23,4	48	317,03
21	22,3	72	261,50
22	32,0	24	1252,75
23	27,3	60	404,71
24	26,3	228	732,65
25	24,6	60	448,20
26	28,7	42	18,47
27	21,6	48	94,15
28	24,9	24	597,65
29	34,5	84	786,89
30	23,0	36	795,20
31	32,0	54	1255,64
32	23,4	120	406,47
33	26,6	120	304,03
34	32,9	156	520,95
35	23,1	60	305,04
36	30,8	96	263,98
37	32,9	60	932,01
38	30,1	120	709,96
39	32,9	36	1444,7
40	30,5	48	599,14
41	24,4	72	1074,46

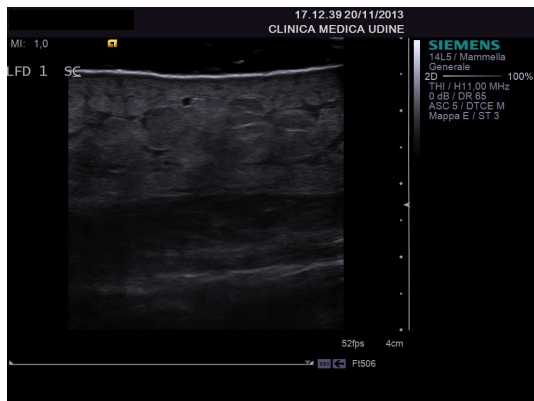
**Tab. 7.1:** BMI, durata ed entità del gonfiore per ogni soggetto del campione



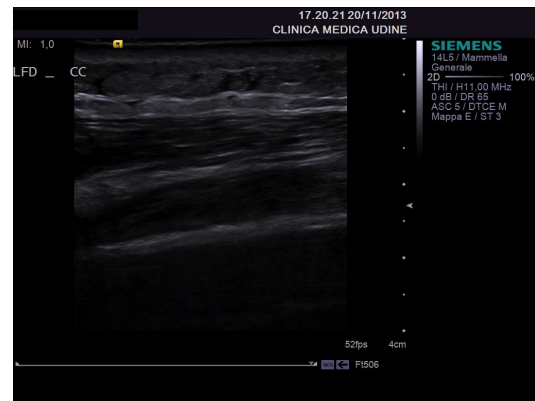
**Grafici 7.2 e 7.3:** BMI all'interno del campione, secondo la classificazione OMS (2004)

Le misurazioni con ARFI, eseguite senza compressione all'arto linfedematoso, hanno permesso di esaminare un solo livello in 5 persone, a causa delle dimensioni della ROI dello strumento, che occupava tutto lo spazio tra epidermide e fascia; in 28 casi è stato possibile studiare tre livelli, a profondità differente (livello superficiale, comprendente epidermide e derma; livello intermedio, posto al di sotto del derma; livello profondo, posto al di sopra della fascia muscolare); in 13 casi è stato possibile misurare soltanto due livelli: superficiale (comprendente epidermide e derma) e profondo (posto tra derma e fascia). Come per i calcoli successivi, delle tre misure eseguite per ogni livello è stata utilizzata quella mediana.

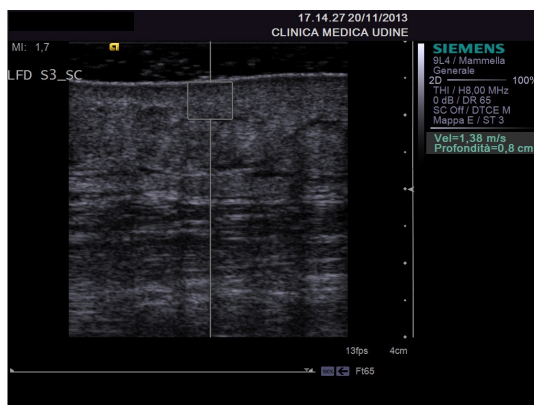
Nell'arto linfedematoso al livello superficiale la mediana ottenuta dai valori è di 1,70 m/s (range: 0,78-2,82 m/s), corrispondente alla velocità dell'onda di taglio generata dall'impulso ultrasonoro, dipendente dall'elasticità del tessuto; al livello intermedio il valore mediano è stato di 1,14 m/s (range: 0,71-3,66 m/s), a quello profondo di 2,10 m/s (range: 0,71-4,29 m/s). Nel grafico 4 sono riassunti i dati relativi ai tre livelli.



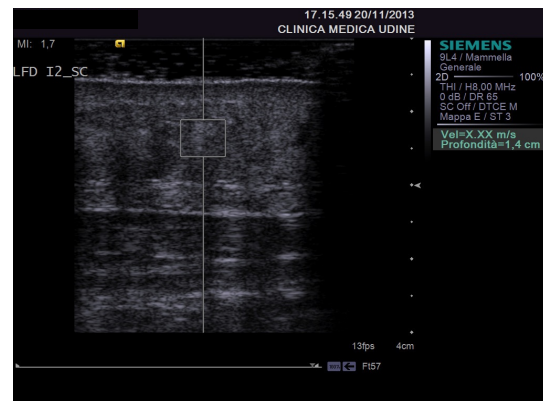
**Fig. 7.1: Arto linfedematoso: ecografia senza compressione**



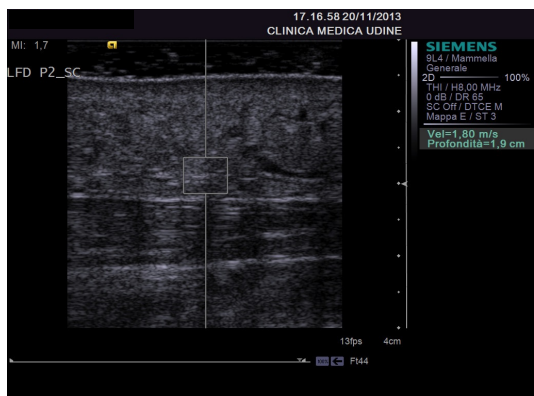
**Fig. 7.2: Arto linfedematoso: ecografia con compressione**



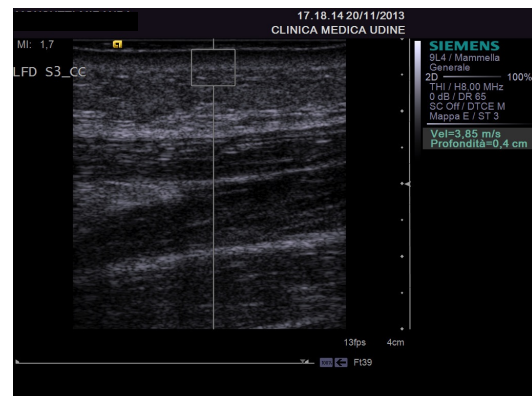
**Fig. 7.3: Arto linfedematoso: misurazione ARFI senza compressione, strato superficiale**



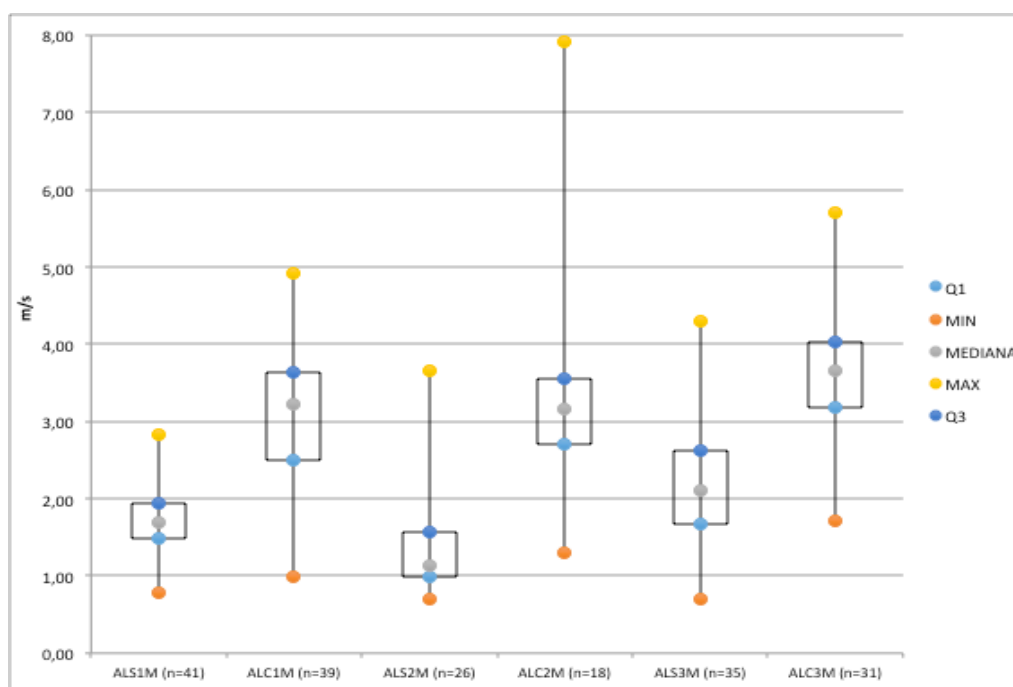
**Fig. 7.4: Arto linfedematoso: misurazione ARFI senza compressione, strato intermedio**



**Fig. 7.5: Arto linfedematoso: misurazione ARFI senza compressione, strato profondo**



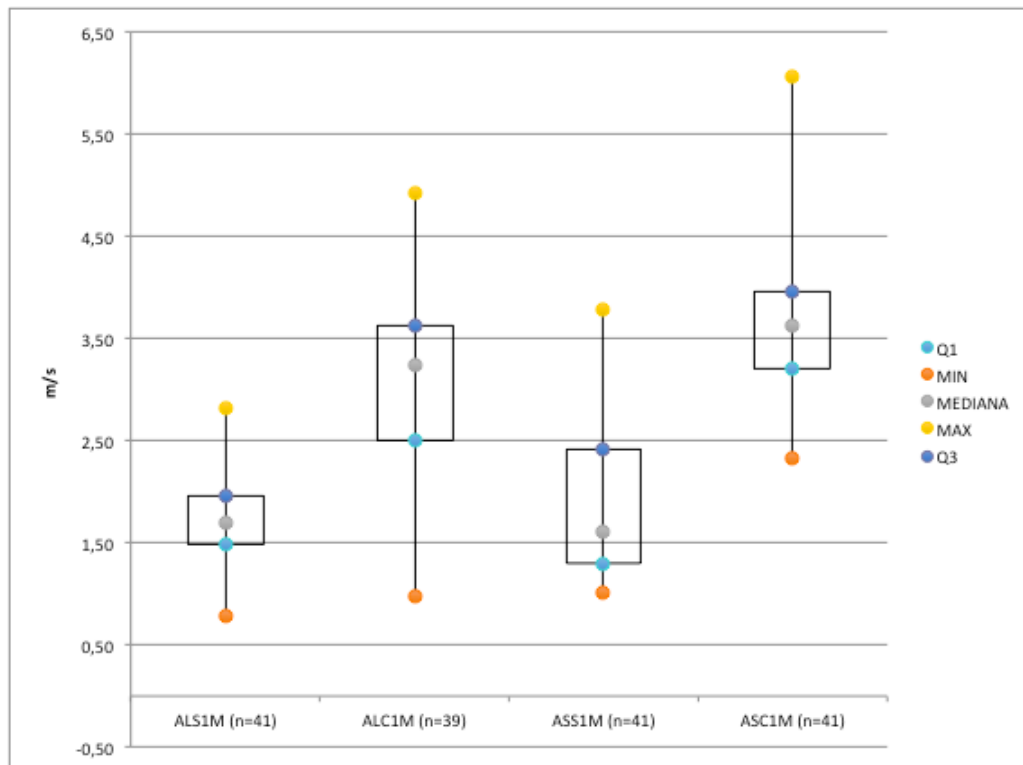
**Fig. 7.6: Arto linfedematoso: misurazione ARFI con compressione, strato superficiale**



**Grafico 7.4:** Acquisizioni ARFI con e senza compressione al livello superficiale, intermedio e profondo, in arto linfedematoso (ALS1M = livello superficiale senza compressione; ALC1M = livello superficiale con compressione; ALS2M = livello intermedio senza compressione; ALC2M = livello intermedio con compressione; ALS3M = livello profondo senza compressione; ALC3M = livello profondo con compressione)

La misurazione ARFI eseguita esercitando una compressione all'arto linfedematoso, ha portato alla riduzione dello spessore dei tessuti epifasciali, con modificazione del numero di osservazioni: in 18 casi è stato possibile studiare tre livelli, a profondità differente; in 31 casi è stato possibile misurare soltanto due livelli: superficiale (comprendente epidermide e derma) e profondo (posto tra derma e fascia). Al livello superficiale il valore mediano è stato di 3,23 m/s (range: 0,98-4,92 m/s), al livello intermedio di 3,16 m/s (range: 1,29-7,92 m/s) e a quello profondo di 3,65 m/s (range: 1,72-5,70 m/s).

All'arto sano la misurazione ARFI senza compressione ha dato le seguenti misure: livello superficiale 1,61 m/s (41 osservazioni; range: 1,01-3,79 m/s), livello profondo 1,33 m/s (14 osservazioni; range: 0,79-2,18 m/s); attuando la compressione la mediana delle misure ARFI è stata di 3,63 m/s (41 osservazioni; range: 2,32-6,07 m/s) a livello superficiale e 3,37 m/s (3 osservazioni; range: 2,98-3,43 m/s) a livello profondo.



**Grafico 7.5** Acquisizioni ARFI a livello superficiale, senza e con compressione, in arto sano e linfedematoso (ALS1M = linfedema, livello superficiale senza compressione; ALC1M = linfedema, livello superficiale con compressione; ASS1M = sano, livello superficiale senza compressione, ASC1M = sano, livello superficiale con compressione)

Nello studio inferenziale dei dati sperimentali, è stata ricercata la presenza di un'eventuale correlazione tra i valori ARFI ottenuti nell'arto con linfedema ai diversi livelli (superficiale, intermedio e profondo). I valori sono stati studiati tramite l'indice di correlazione di Pearson per variabili aleatorie, ad un livello di significatività  $\alpha=5\%$ .

Statisticamente significativa è risultata la differenza dei valori tra il livello intermedio e profondo, senza compressione (indice di correlazione pari a 0,547;  $p=0,005$ ).

Statisticamente significative si sono dimostrate anche le differenze tra livello superficiale ed intermedio (indice di correlazione pari a 0,655;  $p=0,004$ ) e livello intermedio e profondo (correlazione pari a 0,792;  $p<0,001$ ) nell'acquisizione ARFI con compressione.

Inoltre, il trattamento dei dati sperimentali, ottenuti per il solo livello superficiale nell'arto linfedematoso, ha messo in evidenza una differenza



statisticamente significativa tra le acquisizioni in assenza e presenza di compressione (correlazione pari a 0,522;  $p=0,003$ ).

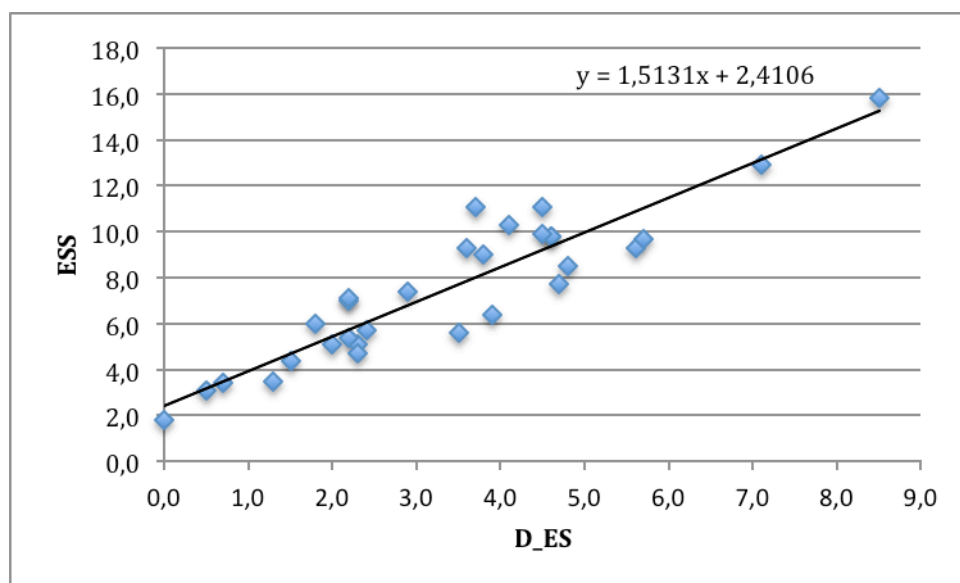
### *Spessori dei tessuti epifasciali*

La misura degli spessori dei tessuti epifasciali, eseguita senza e con compressione sull'arto linfedematoso e sano ha dato i risultati espressi in millimetri, presentati nella tabella 2.

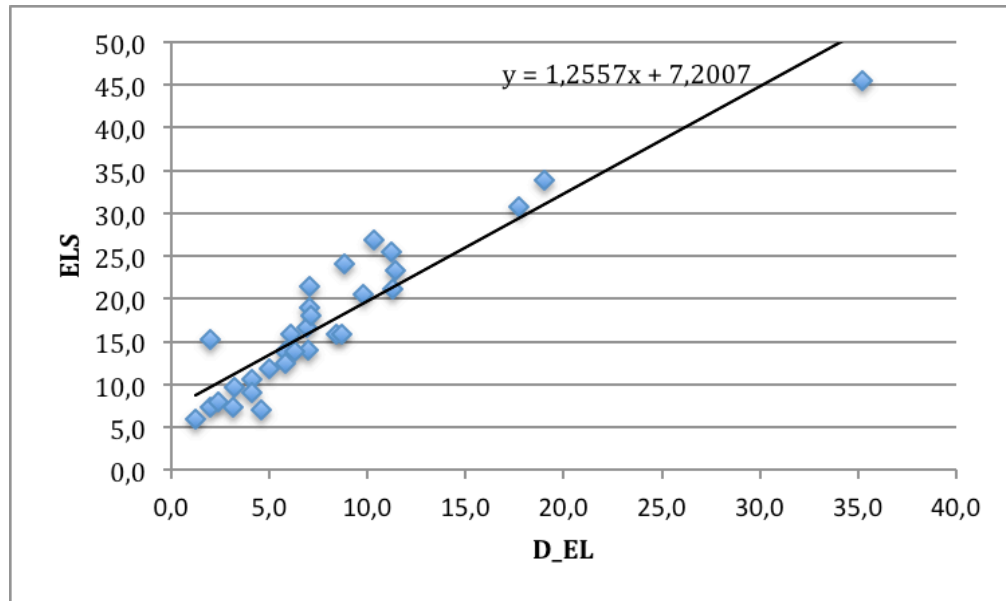
	Linfedema senza comp. (mm)	Linfedema con comp. (mm)	<b>Linfedema differenza (mm)</b>	Sano senza comp. (mm)	Sano con comp. (mm)	<b>Sano differenza (mm)</b>
<b>Valore minimo</b>	6,00	2,50	<b>1,20</b>	1,80	1,30	<b>0,00</b>
<b>Mediana</b>	14,55	8,40	<b>5,60</b>	5,95	3,55	<b>2,45</b>
<b>Valore massimo</b>	45,50	16,60	<b>35,20</b>	15,80	7,40	<b>8,50</b>

**Tab. 7.2** Spessori dei tessuti epifasciali

Le correlazioni tra lo spessore del tessuto epifasciale e la variazione di spessore indotta dalla compressione sono riportate in grafico 7.6 per l'arto sano e 7.7 per l'arto linfedematoso.



**Grafico 7.6** Comprimibilità nel lato sano (in ordinata lo spessore dello strato soprafasciale, in ascissa la variazione di spessore a seguito della compressione)



**Grafico 7.7** Comprimibilità nel lato linfedematoso (in ordinata lo spessore dello strato soprafasciale, in ascissa la variazione di spessore a seguito della compressione)

## 7.4 DISCUSSIONE

Lo studio presentato è il primo ad utilizzare l’elastsonografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) per la valutazione delle modificazioni di elasticità dei tessuti interessati da linfedema cronico. Per ottenere dati quantitativi, sui quali poter operare un’adeguata indagine statistica, è stata utilizzata un’apparecchiatura con software per la quantificazione tessutale (Siemens Acuson S 2000).

Indagini elastosonografiche applicate al linfedema già pubblicate si riferiscono all’uso di apparecchi che permettono di studiare lo “strain”, visualizzandolo con una mappa colorimetrica. <sup>(92, 93)</sup>

In letteratura non sono stati individuati dati relativi alle misure ARFI della “stiffness” (rigidità) di cute e sottocute, cui potersi riferire per un confronto con quanto ottenuto con la presente ricerca. Sono presenti invece valori che si riferiscono al fegato normale e fibrotico, oltre che a milza, pancreas e reni di soggetti sani, in età adulta e pediatrica. Sul fegato vi sono

diverse ricerche che mostrano valori diversi, ma che per l'organo sano variano tra 1,25 e 1,60 m/s; nella fibrosi la stiffness aumenta fino a circa 2,35 m/s (ritrovata nel caso di fibrosi al 4° stadio della scala Metavir); al pancreas e alla milza i valori medi sono rispettivamente pari a 1,40 e 2,44 m/s, mentre nei reni è pari a 2,24 m/s. <sup>(76, 78, 94, 95)</sup>

Nel nostro studio la misurazione ARFI all'arto linfedematoso ha rilevato valori di stiffness diversi per ciascun livello del tessuto epifasciale (livello superficiale, ampiamente corrispondente a epidermide e derma; livello intermedio, sostanzialmente corrispondente alla porzione areolare dell'adipe sottocutaneo; livello profondo, corrispondente a seconda dello spessore di tessuto esaminato, a tutto il settore sottocutaneo o soltanto alla sua porzione soprafasciale): il valore più alto è stato riscontrato al livello profondo (soprafasciale), con dato simile a quello del 3° e 4° stadio della fibrosi epatica (classificazione Metavir, a 4 stadi) e a quello del rene; il valore intermedio è stato ritrovato al livello superficiale, con misura analoga a quella del 2°-3° stadio della fibrosi epatica; il valore più basso è stato individuato al livello intermedio, con misure corrispondenti a quelle dello stadio F0-F1 della stadiazione Metavir. Le differenze rilevate tra strato intermedio e profondo hanno raggiunto la significatività statistica, prospettando la possibilità che effettivamente negli strati più profondi (nei quali si rileva abitualmente il ristagno di raccolte fluide soprafasciali) si produca una fibrotizzazione tessutale.

L'applicazione di una compressione massimale al tessuto linfedematoso è stata eseguita con l'intento di ridurre la componente liquida: infatti dal punto di vista concettuale il tessuto linfedematoso riproduce un modello poroelastico più che viscoelastico, con relazioni meccaniche più complesse, indotte dalla presenza di fluidi non intrappolati. La spremitura (probabilmente non completa) ottenuta con la compressione, potrebbe meglio evidenziare la componente "strutturale" del tessuto e quindi svelare o rendere più apprezzabili variazioni legate all'incremento della cellularità, delle fibre collagene e della matrice extracellulare. E' anche vero che tale modificazione indotta potrebbe perturbare le caratteristiche delle onde in esame, alterando le misure rilevate e falsando l'interpretazione dei dati.

Come era prevedibile, la maggior compattezza tessutale ha comportato la rilevazione di velocità maggiori; inoltre i valori erano distribuiti in un range più ristretto. Vi è stato inoltre il mantenimento del gradiente osservato profondo-superficiale-intermedio, con una differenza statisticamente significativa tra livello superficiale e intermedio, ed intermedio e profondo. E' pertanto confermata una differenza tra la zona areolare e quella lamellare del sottocutaneo, probabilmente imputabile ad alterazioni fibrotiche. Le misurazioni in compressione meritano ulteriori approfondimenti teorici, sulla base di modelli meccanici e biomeccanici.

I valori ottenuti al lato sano si riferiscono sostanzialmente ad un solo livello, poiché lo spessore di cute e sottocute, nel campione in esame, permetteva un solo posizionamento del ROI; soltanto in tre casi lo spessore dei tessuti epifasciali era sufficiente per il posizionamento del ROI a due profondità diverse.

La misura ARFI ottenuta è risultata lievemente minore rispetto al lato edematoso in assenza di compressione e leggermente superiore con compressione massimale.

Nelle misure ARFI del solo strato superficiale dei due lati (sano e linfedematoso) senza compressione, si è dimostrata l'assenza di una differenza statisticamente significativa. Nel lato sano si è osservata una maggior dispersione delle misure e range con valori più elevati, che potrebbero essere in rapporto con una maggior idratazione del derma linfedematoso, quindi con velocità diminuite; in alcuni casi potrebbe essere determinato da una ROI che comprende anche il tessuto subdermico, meno cellulare.

Per quanto riguarda la misurazione ecografica degli spessori dei tessuti epifasciali, la comprimibilità è maggiore al lato edematoso rispetto a quello sano, con una differenza statisticamente significativa. Si rileva una correlazione tra il dato di spessore senza compressione e differenza di spessore dopo compressione, ad entrambi i lati. Non è stato invece possibile individuare una correlazione tra i dati ottenuti con la misurazione ARFI e quelli relativi alla comprimibilità.

Non è pertanto attualmente prospettabile una intercambiabilità tra le due metodiche nello studio della stiffness dei tessuti epifasciali. Sembra anche ridimensionato il ruolo del tonometro nella valutazione della consistenza dei tessuti linfedematosi, andando a verificare probabilmente la cedevolezza dei soli tegumenti superficiali.

I due approcci utilizzati in questo studio sono comunque entrambi interessanti, per il fatto di poter visualizzare lo spessore dei tessuti epifasciali e perché viene fornito un dato quantitativo. Tuttavia è probabilmente necessario giungere ad una adeguata modellizzazione dei tessuti epifasciali normali e linfedematosi, per comprendere il loro modulo elastico reale e le possibilità di studio con le suddette metodiche.

Non sono state individuate correlazioni significative tra BMI e i valori ARFI del lato linfedematoso e di quello sano. Per quanto si dia importanza all'incremento del peso nel determinare un aumento volumetrico del linfedema, i dati ottenuti fanno pensare che i fenomeni locali conseguenti alla stasi cronica siano sostanzialmente indipendenti dal BMI. Per quanto riguarda le misure al lato sano, lo strato dermoepidermico non risente sostanzialmente delle modifiche di BMI, che invece modificano lo spessore e il contenuto in adipe del sottocutaneo; la densità relativamente omogenea dello strato dermoepidermico potrebbe avere influito sul valore delle misure.

Lo studio presenta alcuni limiti. Il principale è l'assenza di dati di riferimento relativi a misure di consistenza di cute e sottocute, in arti normali e linfedematosi.

Nel caso della patologia epatica, lo studio ARFI ha affiancato l'indagine biptica, ancora ritenuta golden standard per la diagnosi di fibrosi. La ormai significativa quantità di studi eseguiti ha permesso di correlare adeguatamente i dati ARFI con le stadiazioni della fibrosi, già stabilite in base ai dati istologici, tanto da poter ormai ipotizzare che l'elastosonografia ARFI possa soppiantare almeno in parte l'esame biptico del fegato, anche per limitare i disagi e le potenziali complicazioni legate alla procedura invasiva.

Un altro problema è che le trasformazioni dei tessuti linfedematosi possono evolvere verso un quadro di fibrosi così come verso una preferenziale

degenerazione lipoidea, o entrambe. I dati ARFI e di ecografia compressiva non permettono di comprendere quale tipo di degenerazione tessutale prevalga. Inoltre, i fluidi presenti nei tessuti linfedematosi in quantità variabile da caso a caso hanno sicuramente un influsso sia sulle misurazioni ARFI che su quelle ecografiche di spessore.

Per quanto lo studio non sia stato indirizzato alla valutazione delle caratteristiche di ecogenicità del sottocute, si è potuto verificare che le scansioni ecografiche hanno dimostrato in quasi ogni soggetto, uno dei pattern ecografici del sottocute descritti da Tassenoy <sup>(47)</sup>. Si potrebbe quindi integrare l'indagine ARFI invece che con l'ecografia compressiva (esame che possiamo ritenere insufficiente, alla luce dei dati che fino ad oggi sono stati raccolti dalla letteratura e anche dalla nostra esperienza), con il pattern ecografico.

In alcuni casi particolarmente significativi (perché agli estremi di uno stesso range di osservazioni, oppure per il pattern ecografico del sottocutaneo particolarmente orientante verso una o l'altra delle trasformazioni) si potrebbero approfondire le osservazioni, sottoponendo i soggetti ad esame RM con immagini in T2 e sequenze per soppressione del grasso e sequenze Flair (fluid attenuated inversion recovery), in modo da correlare il valore ARFI con il tipo specifico di degenerazione fibrotica e/o lipodidea.

E' inoltre attraente l'ipotesi di poter usufruire di nuovi dispositivi, già disponibili sul mercato, che consentono di eseguire microbiopsie, in modo da correlare pattern ecografico del sottocutaneo e misura ARFI con l'esame istologico eseguito nello stesso punto delle rilevazioni ecografiche, analogamente a quanto eseguito nella diagnostica epatologica.

Infine, sembrerebbe promettente eseguire l'indagine ARFI su altre condizioni patologiche, che determinino una definita trasformazione del sottocute (come nel caso dell'obesità, della dermatoliposclerosi, della Sclerosi sistemica), in modo da osservare se si ottengono valori elastometrici omogenei, da poter utilizzare come riferimento.

Un altro limite, sicuramente importante, è rappresentato dal fatto che le persone appartenenti al campione erano tutte in trattamento conservativo periodico del linfedema (in gran parte drenaggio linfatico manuale e bendaggio elastocompressivo), nella maggior parte dei casi completato dall'utilizzo degli

indumenti elastocompressivi. E' dimostrato dalla letteratura che tali presidi prevengono e trattano la trasformazione fibrosclerotica dei tegumenti linfedematosi. Sarà quindi necessario proseguire gli studi non soltanto allargando la casistica, ma anche analizzando i tessuti di persone che non abbiano mai subito trattamenti, verificando anche, con idoneo follow up, le modificazioni indotte dalle modifiche ponderali, dalle terapie conservative e chirurgiche e dalle eventuali complicazioni.

Un problema è stato talora la dimensione della ROI: misure inferiori del "box" avrebbero permesso talora una valutazione più selettiva di specifiche porzioni, come ad esempio del solo derma; la mancanza di un mappa colore di riferimento ha impedito di localizzare la ROI in aree particolarmente significative, ad esempio perché morbide (generalmente mappate in rosso) o più rigide (blu).

Tuttavia va considerato che l'elastosonografia è una tecnica ancora tecnologicamente giovane, in continuo miglioramento. L'apparecchiatura utilizzata per lo studio è già disponibile con un aggiornamento che consente di visualizzare una mappa colore della zona in esame, con la possibilità di selezionare più ROI, su cui eseguire le misurazioni, visualizzate in contemporanea. E' già inoltre in commercio un apparecchio che consente di ottenere dati sulle velocità delle onde di taglio, con possibilità di visualizzazione in "real time".

## **7.5 CONCLUSIONI**

La linfologia è una disciplina in grande evoluzione, grazie all'introduzione di nuovi metodi di indagine, in grado di studiare gli aspetti genetici, molecolari, morfologici del linfedema. Il risultato atteso è la possibilità di evitare la comparsa di tale patologia e di migliorare le terapie, sia ottimizzando quelle già dimostrate efficaci, sia introducendone di nuove.

Lo studio presentato rappresenta un contributo alle ricerche sul linfedema. Infatti, nonostante una serie di limitazioni riconosciute dall'autore, vi è stata la possibilità di dimostrare l'utilità dell'elastosonografia ARFI nell'individuare alcune trasformazioni dei tessuti epifasciali interessati dalla

suddetta patologia. A differenza di quanto si osserva anche nella letteratura più recente, in cui tali modificazioni possono essere studiate su piccole serie di modelli animali sacrificati per la sperimentazione, l'elastosonografia ARFI ha permesso il loro studio in vivo, sull'essere umano, con una invasività non superiore a quella di una normale ecografia.

I promettenti risultati iniziali dovranno comunque essere verificati su casistiche più numerose, e rapportati a quanto evidenziato su patologie confrontabili o da altre possibilità diagnostiche (studi RM, biotici, ecc.).

Va infine riconosciuto che studi come quello presentato, allargando il campo d'indagine elastosonografica ad ambiti clinici inconsueti, potranno dare nuovo impulso allo sviluppo di questa tecnica; dal punto di vista linfologico tali strumenti potranno fare più luce sulle trasformazioni che una patologia inesorabilmente cronica comporta, migliorando l'armamentario diagnostico e di conseguenza le scelte terapeutiche a disposizione dei linfologi.



## BIBLIOGRAFIA

- [1] Rawlings AV: Cellulite and its treatment. *International Journal of Cosmetic Science*, 2006, 28, 175–190.
- [2] Burns DA, Breathnach M, Cox NH, Griffiths CEM: “Rook’s Text of Dermatology” 8<sup>th</sup> edition. Blackwell Publishing Ltd, 2010; 3.1-4.11.
- [3] “The diagnosis and treatment of peripheral lymphedema: Consensus Document of the International Society of Lymphology”. *Lymphology*, 2013; 46, 1-11
- [4] F. Mignini, M. Sabbatini, L. Coppola, and C. Cavallotti. *Lymphatic Research and Biology*. December 2012, 10(4): 189-197.
- [5] Kubik S.: Anatomie del Lymphgefäßsystem, in “Lehrbuch der Lymphologie” Gustav Fisher Verlag, Stuttgart 1993
- [6] Hayes SC, Janda M, Cornish B, Battistutta D, Newman B.: Lymphedema after breast cancer: “Incidence, risk factors, and effect on upper body function”. *J Clin Oncol*. 2008; 26, 21: 3536–3542
- [7] Beesley V, Janda M, Eakin E, Obermair A, Battistutta D.: “Lymphedema after gynecological cancer treatment: Prevalence, correlates, and supportive care needs”. *Cancer*, 2007; 109, 12: 2607–2614
- [8] Shih YCT, Xu Y, Cormier JN, Giordano S, Ridner SH, Buchholz TA, Perkins GH, Elting LS: “Incidence, treatment costs, and complications of lymphedema after breast cancer among women of working age: a 2-year follow-up study”. *J Clin Oncol*. 2009; 27, 12: 2007–2014

- [9] Ahmed RL, Prizment A, Lazovich DA, Schmitz KH, Folsom AR.: “Lymphedema and quality of life in breast cancer survivors: The Iowa Women's Health Study”. J Clin Oncol, 2008; 26, 36: 5689–5696
- [10] Erickson VS, Pearson ML, Ganz PA, et al: “Arm edema in breast cancer patients”. J. Natl. Cancer Inst., 2001; 93, 96-111
- [11] Armer J, Fu MR, Wainstock JM, et al.: “Lymphedema following breast cancer treatment, including sentinel lymph node biopsy”. Lymphology, 2004; 37, 73-91
- [12] Wilke LG, McCall LM, Posther KE, et al.: “Surgical complications associated with sentinel lymph node biopsy: results from a prospective international cooperative group trial”. Ann. Surg. Oncol., 2006; 13, 491-500
- [13] Markowski J, Wilcox JP, Helm PA: “Lymphedema incidence after specific postmastectomy therapy”. Arch. Phys. Med. Rehabil., 1981; 62, 449-452
- [14] Petrek JA, Heelan MC: “Incidence of breast carcinoma-related lymphedema”. Cancer, 1998; 83, 2776-2781
- [15] Ridings P, Bucknall TE: “Modern trends in breast cancer therapy: Towards less lymphoedema?”. Eur. J. Surg. Oncol., 1998; 24, 21-22
- [16] Mortimer PS: The Pathophysiology of Lymphedema Cancer Supplement: American Cancer Society Lymphedema Workshop 1998, 83, 12B, 2798–2802,
- [17] Sener SF, Winchester DJ, Martz CH, Feldman JL, Cavanaugh JA, Winchester DP, Weigel B, Bonnefoi K, Kirby K, Morehead C: Lymphedema after sentinel lymphadenectomy for breast carcinoma. Cancer. 2001 Aug 15;92(4):748-52.

- [18] Földi M, Földi E, Kubik S: “Textbook of Lymphology”. Urban&Fisher, 2003; 227-228
- [19] Onorato A., Guaitolini E., Parodi PC: “Le alterazioni cutanee conseguenti a linfedema”. *Rivista Medica*, 2012, vol. 17, Suppl 2: 1-64. ISSN 1127-6339
- [20] Zampell J; Aschen S; Weitman E; Yan A; Elhadad S; De Brot A, Marina M, Babak J: “Regulation of Adipogenesis by Lymphatic Fluid Stasis: Part I. Adipogenesis, Fibrosis, and Inflammation”. *Plast Reconstr Surg.*, 2012; 129, 4: 825–834.
- [21] Campisi C, Bellini C, Campisi C, Accogli S, Bonioli E, Boccardo F: “Microsurgery for lymphedema: Clinical research and long term results”. *Microsurgery*, 2010; 30, 4: 256-60
- [22] Murdaca G, Cagnati P, Gulli Rossella, Spanò F, Puppo F, Campisi C, Boccardo F: “Current views on diagnostic approach and treatment of lymphedema”. *The American Journal of Medicine*, 2012; 125, 2: 134-140
- [23] Ryan M, Campisi CC, Boccardo F, Campisi C: “Surgical treatment for lymphedema: optimal timing and optimal techniques”. *J Am Coll Surg*, 2013; 216, 6: 1221-3
- [24] Wiig H, Swartz MA: “Interstitial fluid and Lymph formation and transport: physiological regulation and roles in inflammation and cancer”. *Physiol Rev*, 2012; 92: 1005–1060
- [25] Oikarinen A, Knuutinen A: “Mechanical properties of human skin: biochemical aspects in Bioengineering of the Skin: Skin Biomechanics”, Volume V. CRC Press, 2001
- [26] Duck FA: “Physical properties of tissue”. Academic Press, London, UK, 1990

- [27] Fung YC: “Biomechanics” 2nd edn. Springer, New York, 1993
- [28] Casley-Smith J: “Alterations of untreated lymphedema and its grades over time”. *Lymphology*, 1995; 28, 174-85
- [29] Kaiserling E: “Morphological changes”, da Foeldi M, Foeldi E, Kubik S: “Textbook of Lymphology”. Urban & Fisher, 2003; 322-370
- [30] Kasper D, Meller MM: “Lymphedema of the hand and forearm following fracture of the distal radius”. *Orthopedics*, 2008; 31, 2: 172
- [31] Wynn TA: “Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases”. *J Clin Invest.*, 2007; 117, 3: 524–529
- [32] Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown R: : “Myofibroblasts and mechano-regulation of connettive tissue remodeling” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, May 2002, 3 349-363
- [33] Friedman: “Mechanism of disease: mechanis of hepatic fibrosis and therapeutic implications”. *Gastroenterology*, 2008; 134, 6: 1655–1669
- [34] Wynn TA: “Cellular and molecular mechanisms of fibrosis”. *J Pathol*, 2008; 214: 199–210
- [35] Meneghin MD, Hogaboam C: “Infectious disease, the innate immune response, and fibrosis”. *J Clin Invest*, 2007; 117, 3: 530–538
- [36] Rattner A, Nathans J: “Macular degeneration: recent advances and therapeutic opportunities”. *Nat Rev Neurosci*, 2006; 7, 11: 860–872.
- [37] Thannickal VJ, Toews GB, White ES, Lynch JP, Martinez FJ: “Mechanisms of pulmonary fibrosis”. *Annu Rev Med*, 2004; 55: 395–417

[38] Caplan AI, Dennis JE: “Mesenchymal stem cells as trophic mediators”. *J Cell Biochem*, 2006; 98, 5: 1076–1084

[39] Olszewski WL: “Immunohistochemical studies of skin in secondary lymphedema reveal presence of chronic inflammatory reaction”. *Scripta Phlebol*, 1995; 3, 30-32

[40] Weissleder H, Schuchhardt C, Pathophysiology, da Weissleder H, Schuchhardt C: “Lymphedema Diagnosis and Therapy”. Viavital Verlag, 2008; 44-60

[41] Cesarone MR, De Sanctis MT, Laurora G, et al.: “Lymphedema. New non-invasive methods for diagnosis and follow up”. *Minerva Cardioangiol*, 1995; 43, 211-218

[42] Masuda EM, Kistner RL: “Long-term results of venous valve reconstruction: A four- to twenty-one year follow-up”. *J. Vase. Surg.*, 1994; 19, 391-403

[43] Doldi SB, Lattuada E, Zappa MA, et al.: “Ultrasonography of extremity lymphedema”. *Lymphology*, 1992; 25, 129-133

[44] Mellor RH, Bush NL, Stanton AW, et al.: “Dual-frequency ultrasound examination of skin and subcutis thickness in breast cancer-related lymphedema”. *Breast J*, 2004; 10, 496-503

[45] Kim W, Chung SG, Kim TW, Seo KS: “Measurement of soft tissue compliance with pressure using ultrasonography”. *Lymphology*, 2008; 41, 167-177

[46] Aström K, Abdsaleh S, Brenning G, Ahlström K: “MR imaging of primary, secondary, and mixed forms of lymphedema”. *Acta Radiol*, 2001; 42:

[47] Tassenoy A, De May J, De Ridder F, Van Schuerbeeck P, Vanderhasselt T, Lamote J, Lievens P: “Postmastectomy lymphoedema: different patterns of fluid distribution visualized by ultrasound imaging compared with magnetic resonance imaging”. *Physiotherapy*, 2011; 97, 234-243

[48] Case T, Witte C, Witte M, Unger E, Williams W: “Magnetic resonance imaging in human lymphedema: comparison with lymphangioscintigraphy”. *Magn Reson Imaging*, 1992; 10: 549–58

[49] Fujii K: “MR imaging of edematous limbs in lymphatic and non lymphatic edema”. *Acta Radiol*, 1994; 35: 262–9

[50] Idy-Peretti I, Bittoun J, Alliot F, Richard S, Querleux B, Cluzan R: “Lymphedematous skin and subcutis: in vivo high resolution magnetic resonance imaging evaluation”. *J Invest Dermatol*, 1998; 110: 782–7

[51] Naouri M, Samimi M, Atlan M, Perrodeau E, Vallin C, Zakine G, Vaillant L, Machet L: “High-resolution cutaneous ultrasonography to differentiate lipoedema from lymphedema”. *British Journal of Dermatology*, August 2010, 163, 2, 296-301

[52] Fonder MA, Loveless JW, Lazarus GS: “Lipedema, a frequently unrecognized problem”. *J Am Acad Dermatol*, 2007; 2 (Supl.): S1–3

[53] Vignes S: “Lipoedeme”. *Dermatol Venereol* 2006; 133: 91–3

[54] M Gniadecka: “Localization of dermal edema in lipodermatosclerosis, lymphedema, and cardiac insufficiency”. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1996; 35, 37-41

[55] Ophir J, Cepsedes EI, Ponnekanti H, Yazdi Y, Li X: “Elastography: a

quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues”. *Ultrason Imaging*, 1991; 13, 111-134

[56] Cosgrovel D, Piscaglia F, Bamber J, Bojunga J, Correas JM, Gilja OH, Klauser AS, Sporea I, Calliada F, Cantisani V, D’Onofrio M, Drakonaki EE, Fink M, Friedrich-Rust M, Fromageau J, Havre RF, Jenssen C, Ohlinger R, Săftoiu A, Schaefer F, Dietrich CF: “EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Ultrasound Elastography. Part 2: Clinical Applications”. *Ultraschall in Med*, 2013; 34: 238-253

[57] Bamberl J, Cosgrove D, Dietrich CF, Fromageau J, Bojunga J, Calliada F, Cantisani V, Correas JM, D’Onofrio M, Drakonaki EE, Fink M, Friedrich-Rust1 M, Gilja OH, Havre RF, Jenssen C, Klauser AS, Ohlinger R, Saftoiu A, Schaefer F, Sporea I, Piscaglia F: “EFSUMB Guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: basic principles and technology”. *Ultraschall in Med*, 2013; 34: 169-184

[58] Monetti G: “Ecografia muscolo-scheletrica – Elastosonografia”. Timeo Editore, 2011

[59] Wells P, Hai-Dong L: “Medical ultrasound: imaging of soft tissue strain and elasticity”. *J. R. Soc. Interface*, 2011; 8, 1521-1549

[60] Manduca A, Oliphant TE, Dresner MA, Mahowald JL, Kruse SA, Amromin E, Femlee JP, Greenleaf JF, Ehman RL: “Magnetic Resonance Elastography: non-invasive mapping of tissue elasticità”. *Med Image Anal*, 2001; 5, 237-254

[61] Mariappan YK, Glaser KJ, Ehman RL: “Magnetic Resonance Elastography: a review”. *Clin Anat*, 2010; 23, 497-511

[62] Van der Veen P, Vermeiren K, Von Kemp K, Lamote J, Sacre R, Lievens P: “A key to understanding postoperative lymphoedema: a study on the

evolution and consistency of oedema of the arm using ultrasound imaging”.  
The Breast, 2001; 10, 225-230

[63] Itoh A, Ueno E, Tohno E, Kamma H, Takahashi H, Shiina T, Yamakawa M, Matsumura T: “Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis”. Radiology, 2006; 239, 341–350

[64] Sugimoto T, Ueha S, Itoh K: “Tissue hardness measurement using radiation force of focused ultrasound”. Honolulu, 1990; 1377–1380

[65] Bercoff J, Tanter M, Fink M: “Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping”. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr., 2004; 51, 396–409

[66] Bercoff J, Tanter M, Muller M, Fink M: “The role of viscosity in the impulse diffraction field of elastic waves induced by acoustic radiation force”. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr., 2004; 51, 1523–1536

[67] Sarvazyan AP, Rudenko OV, Swanson SD, Fowlkes JB, Emelianov SY: “Shear wave elasticity imaging: a new ultrasonic technology in medical diagnosis”. Ultrasound Med Biol, 1998; 24: 1419-1435

[68] Nightingale KR, McAleavey SA, Trahey GE: “Shear-wave generation using acoustic radiation force: in vivo and ex vivo results”. Ultrasound Med Biol, 2003; 29: 1715-1723

[69] Palmeri ML, Wang MH, Dahl JJ, Frinkley KD, Nightingale KR: “Quantifying hepatic shear modulus in vivo using acoustic radiation force”. Ultrasound Med Biol, 2008; 34: 546-558

[70] Nightingale KR, Soo MS, Nightingale R, Trahey GE: “Acoustic radiation force impulse imaging: in vivo demonstration and clinical feasibility”. Ultrasound Med Biol, 2002; 28: 227-235



- [71] Palmeri ML, Sharma AC, Bouchard RR, Nightingale RW, Nightingale KR: "A finite element method model of soft tissue response to impulsive acoustic radiation force". *Ultrasound Med Biol*, 2005; 52: 1699-1712
- [72] Fahey BJ, Palmeri M, Trahey GE: "The impact of physiological motion on tissue tracking during radiation force imaging". *Ultrasound Med Biol*, 2007; 33: 1149-1166
- [73] Melodelima D, Bamber JC, Duck FA, Shipley JA: "Transient elastography using impulsive ultrasound radiation force: a preliminary comparison with surface palpation elastography". *Ultrasound Med Biol*, 2007; 33: 959-969
- [74] Palmeri ML, Nightingale KR: "On the thermal effects associated with radiation force imaging in soft tissue". *Ultrasound Med Biol*, 2004; 51: 551-565
- [75] Bravo AA, Sheth SG, Chopra S: "Liver biopsy". *N Engl J Med*, 2001; 344: 495-500
- [76] The French METAVIR Cooperative Study Group: "Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C". *Hepatology*, 1994; 20, 1: 15-20
- [77] Bedossa P, Darge`re D, Paradis V: "Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C". *Hepatology*, 2003; 38: 1449-1457
- [78] Karlas TF, Pfrepper C, Rosendahl J, Benckert C, Wittekind C, Jonas S, et al.: "Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography in acute liver failure: necrosis mimics cirrhosis". *Z Gastroenterol*, 2011; 49: 443-448
- [79] Goertz RS, Egger C, Neurath MF, Strobel D: "Impact of food intake,

ultrasound transducer, breathing maneuvers and body position on acoustic radiation force impulse (ARFI) elastometry of the liver”. *Ultraschall Med*, 2012; 33: 380-385

[80] Yoneda M, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, et al.: “Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography”. *Radiology*, 2010; 256: 640-647

[81] Tomita H, e coll.: “Acoustic Radiation Force Impulse Imaging for Assessing Graft Fibrosis After Pediatric Living Donor Liver Transplantation: A Pilot Study”. *Liver transplantation*, 2013, 19, 11, 1202-1213

[82] Bota S, Herkner H, Sporea I, Salzl P, Sirli R, Neghina AM, Peck-Radosavljevic M: “Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis”. *Liver International*, September 2013; 33, 8, 1138-1147

[83] Nierhoff J, Chávez Ortiz AA, Herrmann E, Zeuzem S, Friedrich-Rust M, “The efficiency of acoustic radiation force impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis”. *Eur Radiol*, 2013; 23, 11: 3040-53

[84] Bruno C, Caliori G, Zaffanello M, Brugnara M, Zuffante M, Cecchetto M, Minniti S, Pedot A, Talamini G, Pozzi-Mucelli R: “Acoustic radiation force impulse (ARFI) in the evaluation of the renal parenchymal stiffness in paediatric patients with vesicoureteral reflux: preliminary results”. *Eur Radiol* December 2013, 23, 12, 3477-3484

[85] Tiwari A, Cheng KS, Button M, et al.: “Differential diagnosis, investigation, and current treatment of lower limb lymphedema”. *Arch. Surg.*, 2003; 138, 152-161

[86] Golshan M, Smith B: “Prevention and management of arm lymphedema in the patient with breast cancer”. *J. Support Oncol.*, 2006; 4, 381-386

- [87] Bar Ad V, Cheville A, Solin L, Dutta P, Both S, Harris E: “Time course of mild arm lymphedema after breast conservation treatment for earlystage breast cancer”. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2010; 76: 85–90
- [88] Sener SF, Winchester DJ, Martz CH, Feldman JL, Cavanaugh JA, Winchester DP, Weigel B, Bonnefoi K, Kirby K, Morehead C: “Lymphedema after sentinel lymphadenectomy for breast carcinoma”. *Cancer*, 2001; 92, 4: 748–752
- [89] Ruocco V, Brunetti G, Puca RV, Ruocco E: “The immunocompromised district: a unifying concept for lymphoedematous, herpes-infected and otherwise damaged sites”. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2009; 23, 12: 1364-1373
- [90] Chen HC, O’Brien BMcC, Pribaz JJ, Roberts AHN: “The use of tonometry in the assessment of upper extremity lymphedema”. *British Journal of Plastic Surgery*, 1988; 41, 399-402
- [91] Bagheri S, Ohlin K, Olsson G, Brorson H: “Tissue tonometry before and after liposuction of arm lymphedema following breast cancer”. *Lymphatic Research and Biology*, 2005; 3, 2: 66-80
- [92] Mihara M, Hayashi Y, Murai N, Moriguchi N, Iida T, Hara H, Todokoro T, Narushima M, Uchida G, Koshima I: “Regional diagnosis of lymphoedema and selection of sites for lymphaticovenular anastomosis using elastography”. *Clinical Radiology*, 2011; 66, 715-719
- [93] Righetti R, Garra BS, Mobbs LM, Kraemer-Chant CM, Ophir J, Krouskop TA: “The feasibility of using poroelastographic techniques for distinguishing between normal and lymphedematous tissues in vivo”. *Med Biol*, 2007; 52, 6525-6541

- [94] Cassinotto C, Lapuyade B, Ait-Ali A, Vergniol J, Gaye D, Foucher J, Bailacq-Auder C, Chermak F, Le Bail B, de Lédinghen V: “Liver fibrosis: non invasive assessment with acoustic radiation force impulse elastography – Comparison with Fibroscan M and XL probes and Fibrotest in patient with chronic liver disease”. *Radiology*, 2013; 269, 1: 283-292
- [95] Gallotti A, D’Onofrio M, Pozzi Mucelli R: “Acoustic radiation force impulse (ARFI) technique in ultrasound with Virtual Touch tissue quantification of the upper abdomen”. *Radiol Med*, 2010; 115: 889-897